МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ анксиолитических, противосудорожных и снотворных средств



АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНСКОЙ ССР
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ
им. А. В. БОГАТСКОГО

МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ анксиолитических, противосудорожных и снотворных средств

КИЕВ НАУКОВА ДУМКА 1988

УДК 615.213 + 615.214 + 547.891 + 616.89

Механизмы действия анксиолитических, противосудорожных и снотворных средств / Андронати С. А., Яворский А. С., Чепелев В. М. и др.— Киев : Наук. думка, 1988.— 256 с.— ISBN 5-12-000214-5.

Коллективная монография группы специалистов в области биоорганической химии, биохимии, психофармакологии, нейрофизиологии, психиатрии посвящена комплексному рассмотрению современных представлений о механизмах действия анксиолитических, противосудорожных и снотворных средств. Удобными объектами исследования данной проблемы являются 1,4-бенздиазепины и некоторые другие вещества, указанные фармакологические эффекты которых обусловлены взаимодействием с надмолекулярным комплексом, включающим рецепторы γ-аминомасляной кислоты, бенздиазепинов, места связывания барбитуратов, пикротоксина и хлорный канал. Исследованы характеристики указанного комплекса, закономерности связывания различных лигандов с рецепторами. Комплексный подход к изучению данной проблемы позволяет углубить представления о физико-химических основах деятельности центральной нервной системы, действия на нее психотропных средств, создает предпосылки целенаправленной разработки новых психотропных средств и практических рекомендаций для клинической психофармакологии.

Для широкого круга специалистов в области биоорганической химии, биохимии, фармакологии и медицины.

Ил. 41. Табл. 52. Библиогр. в конце глав.

Авторы

С. А. Андронати, А. С. Яворский, В. М. Чепелев, А. Я. Корнеев, Л. Х. Алликметс, Т. А. Воронина, Л. К. Ряго, Р. К. Кийвет, В. Г. Зиньковский, О. В. Жук, Н. Я. Головенко, С. Б. Аксентьев, М. В. Левинский, М. С. Аксентьева, К. В. Москети, В. С. Битенский, А. Н. Моховиков

Ответственный редактор *С. А. Андронати*

Редакция химической литературы

М $\frac{1803000000\text{-}134}{М221(04)\text{-}88}$ КУ-2-144-88

ISBN 5-12-000214-5

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ

Наиболее часто встречающимися психоневротическими расстройствами являются состояния «беспричинной» тревоги и расстройства сна. Основная группа препаратов, применяемых для купирования состояний тревоги, беспокойства, напряжения и страха,— транквилизаторы бензодиазепинового ряда. Они характеризуются широким диапазоном фармакологических свойств и, кроме анксиолитического (противотревожного) действия, проявляют противосудорожное, снотворное и миорелаксантное. В зависимости от структуры соединений данного класса в их психофармакологическом спектре на первый план выходят одни из указанных эффектов и становятся менее выраженными другие.

В начале 60-х годов текущего столетия в арсенале психотропных средств появились первые препараты класса 1,4-бенздиазепинов— хлордиазепоксид, диазепам, нитразепам и оксазепам. Обладая ярко выраженным транквилизирующим действием при низкой токсичности, они быстро завоевали популярность не только среди медиков, но и населения многих стран мира, захватили фармацевтические рынки, вытеснив с позиций препаратов-лидеров другие психотропные средства.

Синтезированы тысячи производных 1,4-бенздиазепина. Более трех десятков из них разрешены к применению в медицине в качестве психотропных средств. Тем не менее проблема создания новых, более совершенных транквилизаторов, противосудорожных и снотворных средств не утратила своей актуальности. Необходимы препараты как с широким фармакологическим спектром, так и селективные, лишенные нежелательных для конкретных случаев проявлений (например, седативного и снотворного для «дневных» транквилизаторов), препараты как с длительным, так и коротким действием, как с мощным, так и мягко выраженным транквилизирующим эффектом.

Если первые бензодиазепиновые препараты были найдены в результате эмпирического поиска, то с течением времени их поиск становится все более целенаправленным. Этому способствовали широкие исследования связи структура — свойства в ряду 1,4-бензодиазепинов и родственных им систем.

В ходе этих работ широко исследовались зависимости различных свойств соединений (включая фармакологические) от их строения и геометрии. Это позволило более целенаправленно планировать синтез потенциально активных веществ. Установлен характер влияния на их активность природы заместителей и групп в положениях 7, 5, 4, 3, 2, 1, а также природы и места сочленения аннелированных циклов, рассмотрена связь между геометрическими параметрами молекул 1,2-дигидро-3Н-1,4-бензодиазепин-2-онов, полученными методом рентгеноструктурного анализа, и активностью.

Предприняты попытки количественной оценки связи между активностью, физико-химическими свойствами (липофильность, р*K*, полярографические характеристики, дипольные моменты, заряды на атомах) и структурой бензодиазепинов (БД). Применение метода Хэнча для количественного изучения связи между физико-химическими и фармакологическими свойствами БД дало удовлетворительные результаты для сравнительно узких рядов производных данного класса. По-видимому, большее значение для «конструирования» новых анксиолитических, противосудорожных и гипноседативных средств приобретут результаты исследований механизма их действия в сочетании с результатами изучения связи между структурой и свойствами агонистов и антагонистов соответствующих рецепторов.

Выяснение механизма действия эндогенных и экзогенных биологически активных веществ имеет исключительно важное значение для познания фундаментальных основ процессов жизнедеятельности. Определение физико-химических закономерностей взаимодействия биологически активных веществ с активными центрами организма на молекулярном уровне, поведения их в организме (транспорт, биотрансформация, связывание с различными эндогенными веществами, выделение из организма) способствует созданию теоретической базы направленного синтеза новых препаратов. Эти данные чрезвычайно важны также для разработки теоретически обоснованных рекомендаций к применению препаратов в клинической и амбулаторной практике.

Нейрофизиологические, биохимические и молекулярно-биологические основы действия 1,4-бензодиазепинов и родственных соединений исследуются уже около 20 лет. С конца 60-х годов широко изучалось влияние БД на нейромедиаторные системы. Показано, что они изменяют содержание и скорость оборота в нервной ткани γ-аминомасляной кислоты (ГАМК), глицина, дофамина, 5-окситриптамина, норадреналина и ацетилхолина. Важным результатом этих работ было установление того факта, что БД потенцируют ГАМК-ергические процессы и механизм их действия связан с облегчением постсинаптической ГАМК-ергической регуляции.

Качественно новым этапом в изучении механизма действия БД явилось обнаружение в головном мозге животных и человека участков их специфического связывания.

Исследование на молекулярном уровне рецепторов нейромедиаторов и лекарственных веществ получило развитие в основном в пос-

ледние 10 лет. Этому способствовала разработка в начале 70-х годов эффективных методик, которые впервые были применены в исследовании опиатных рецепторов.

Бенздиазепиновые рецепторы (БДР) были открыты в 1977 г. в мозге крыс и почти одновременно в мозге человека. В последующие годы большая часть публикаций, связанных с 1,4-бенздиазепинами, посвящена их изучению. Интерес к последним усиливался тем обстоятельством, что, как выяснилось, функции БДР в центральной нервной системе (ЦНС) связаны с важнейшими ГАМК-ергическими тормозными процессами.

Указанная выше связь осуществляется с помощью рецепторно-ионофорного ансамбля (аллостерического комплекса), включающего рецепторы ГАМК и БД, места связывания барбитуратов и пикротоксина, а также хлорный канал. Далее этот ансамбль сокращенно именуется ГАМК-БД-рецепторно-ионофорным. Однако вследствие исключительной сложности и нетривиальности проблемы многие принципиальные вопросы, связанные со структурой, топологией, функциями как всего ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля, так и его отдельных частей, пока окончательно не выяснены. Ряд положений остается дискуссионным. Достаточно сказать, что само название «бенздиазепиновые рецепторы» еще не с полным основанием может применяться для обозначения структур мембран мозга, содержащих места специфического связывания БД. Неясно их назначение в ЦНС — то ли это рецепторы тревоги, то ли, наоборот, рецепторы, с помощью которых тревога подавляется. Не установлена окончательно природа эндогенного лиганда БДР.

Еще более условно термин «бенздиазепиновые рецепторы» относят к периферическим местам связывания БД, локализованным как в периферических органах (сердце, почки, печень, эндокринные железы, легкие, нос), так и в ЦНС. Взаимодействие субстратов с этими местами связывания имеет своим результатом эффекты, далекие от тех, которые наблюдаются при связывании БД, их агонистов и антагонистов с центральными БДР. Тем не менее большинство исследователей, учитывая указанную относительность, все же называют рецепторами места связывания БД как центрального, так и периферического типа.

Глава 1

БЕНЗДИАЗЕПИНОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ СВОЙСТВА, ФУНКЦИИ

Идентификация специфических мест связывания БД в мозге животных и человека как БДР имеет большое значение для выяснения механизма их психотропного действия. Основными признаками рецепторного механизма связывания являются ограниченность числа мест связывания, высокая аффинность и стереоспецифичность, обратимость и быстрая кинетика связывания, неравномерное распределение мест связывания по отделам мозга и наличие эндогенного лиганда, связывание которого приводит к выраженному физиологическому эффекту [1]. Практически всем этим требованиям отвечают места специфического связывания БД в ЦНС. Как будет показано ниже, открытым пока остается вопрос об эндогенном лиганде БДР.

1.1. Распределение БДР в ЦНС

БДР распределены в ЦНС животных и человека неравномерно. Наибольшая плотность БДР наблюдается в коре больших полушарий, затем в гиппокампе, мозжечке, гипоталамусе, стриатуме, среднем мозге и т. д. [2—4] (табл. 1.1).

Специальными исследованиями с применением ауторадиограмм и фотоаффинной метки [5—7], а также необратимого связывания иразепина I и кеназепина II

I

II

показано, что БДР локализованы на поверхностных мембранах нейронов [8—10].

Таблица 1.1. **Распределение БДР в отделах мозга (за 100 % принята максимальная концентрация мест специфического связывания в коре головного мозга) [11—13]**

Отдел мозга	Человек		Крыса	
	%	моль/г белка мозговой ткани	%	моль/г белка мозговой ткани
Кора		670—1200		305—830
Лобный	100		100	
Прецентральный	94			
Постцентральный	95			
Мозжечок		580—760	64	270—710
Кора	64			
Червь	74			
Миндалина	60			
Гиппокамп	65	610—670	77	252—831
Гипоталамус	47		54	
Таламус	36	450—52	54	290—530
Полосатое тело			45	
Хвостатое ядро	42			
Скорлупа	41			
Бледный шар	38			
Черное вещество	24			
Покрышка	15			
Зубатое ядро	16			
Олива	13			
Мост	16		35	
Обонятельная луковица			95	
Продолговатый мозг	18		23	
Спинной мозг	18		10	

Позднее при введении каиновой кислоты

CH_2=C(CH_3)– ; кольцо пирролидина (N–H) с заместителями CH_2COOH и COOH

III

и других токсичных веществ в мозжечок, черную субстанцию, стриатум в сочетании с перерезкой и удалением коры головного мозга установлен ряд закономерностей в расположении БДР в клетках, их взаимодействии с другими нейрорецепторами, в первую очередь ГАМК-ергическими рецепторами [14—15]. Распределение БДР в отделах мозга животных и человека не коррелирует с распределением рецепторов к известным медиаторам ЦНС: глицину, ацетилхолину, серотонину, энкефалину [2—4].

Установлено, что в мозжечке крыс и мышей БДР расположены главным образом в молекулярном слое на дендритах клеток Пуркинье, а у человека и морских свинок — и в гранулярном слое и клетках зерен. Снижение плотности БДР наблюдалось у животных,

имеющих недоразвитые клетки Пуркинье, клетки зерен и т. п. [3, 4, 16].

Широкое распределение БДР в ЦНС человека и животных свидетельствует о том, что БД могут действовать на многих уровнях мозга и иметь широкий спектр фармакологического действия.

1.2. Характеристики связывания лигандов с БДР

В условиях равновесия рецепторная система $R + L \rightleftarrows RL$ характеризуется равновесной константой диссоциации $K_Д$ (или константой аффинности $K_A = 1/K_Д$) и максимальным содержанием лиганд-связывающих центров (B_m) по отношению к массе или объему биологического препарата, содержащего рецептор.

Величины $K_Д$ и B_m задаются соотношениями

$$K_Д = \frac{[L]\,[R]}{[RL]}; \tag{1.1}$$

$$B_m = [R] + [RL]. \tag{1.2}$$

Степень насыщения связывающих центров задается отношением RL/B_m. Величину специфического связывания (SB) радиолиганда, численно равную RL, определяют как разность между общим (TB) и неспецифическим (NSB) связыванием ^{3}H-БД с синаптическими мембранами (СМ), содержащими БДР. Величину NSB определяют в присутствии $10^3 - 10^5$-кратного избытка немеченного лиганда. Равновесная концентрация не связанного с рецептором радиолиганда ($[L_F]$) равна разности начального содержания радиолиганда в пробе ($[L_0]$) и величины TB. Экспериментально определяют зависимость SB от $[L_F]$, график которой представляет ветвь гиперболы [17—23] и описывается уравнением

$$\frac{SB}{B_m} = \frac{[L_F]}{K_Д + [L_F]} \quad \text{или} \quad SB = \frac{B_m}{1 + K_Д/[L_F]}. \tag{1.3}$$

При этом необходимо достигать области насыщения рецептора радиолигандом, поскольку неверный выбор интервала концентрации может существенно отразиться на последующем определении величин $K_Д$ и B_m.

Если область насыщения достигнута, то график зависимости SB от $[L_F]$ в координатах Клотца (SB от $\lg [L_F]$) принимает S-образную форму [24—25]. При условии насыщения равенство (3) представляют в виде, приводящем к линейной зависимости SB от B_m и $K_Д$. Преобразование этого выражения дает уравнения Скетчарда [17—23] и Хилла [18, 19, 27]

$$\frac{SB}{[L_F]} = \frac{B_m}{K_D} - \frac{SB}{K_Д}; \tag{1.4}$$

$$\lg \frac{SB}{B_m - SB} = n \lg [L_F] - \lg [K_D]. \tag{1.5}$$

Обработка экспериментальных данных с помощью этих уравнений позволяет определить величины $K_Д$, B_m и число связывающих центров n. Если рецепторные участки гетерогенны или взаимодействуют (кооперативность действия), графики уравнения становятся криволинейными. Анализ последних приведен в работах [28—31]. Аппроксимация криволинейного графика Скетчарда прямыми дает возможность оценить $K_Д$ и B_m каждого типа БДР, а значение n и форма графика Хилла — тип кооперативности (положительный или отрицательный) и ее изо- или аллостерический характер [18—19].

Сродство к БДР немеченных лигандов обнаруживается по способности этих соединений ингибировать связывание радиолиганда.

Для выяснения типа ингибирования (конкурентное, неконкурентное, бесконкурентное, смешанный тип ингибирования) используют анализ уравнения Хьюза — Клотца в двойных обратных координатах $1/SB$ от $1/[L_F]$ [18—19, 26]

$$\frac{1}{SB} = \frac{1}{B_m} + \frac{K_Д}{B_m} \frac{1}{[L_F]} . \qquad (1.6)$$

С помощью этого выражения можно определить не только параметры $K_Д$ и B_m в отсутствие ингибитора, но и K_A (I) в его присутствии (константу аффинности ингибитора) [26]. Однако в большинстве случаев, в том числе и при изучении БДР, способность немеченного лиганда связываться с рецептором выражают величиной относительного сродства. Изменяя концентрацию немеченного лиганда, оценивают IC_{50} — концентрацию ингибитора, вызывающего 50 %-ное уменьшение связывания радиолиганда с рецептором.

Значение IC_{50} находят обработкой зависимости SB от концентрации ингибитора ($[I]$) (кривых ингибирования) методом Хилла или методом log — logit преобразования. Константу ингибирования (K_i) специфического связывания радиолиганда, которая характеризует величину сродства к рецептору, находят по формуле, полный вывод которой приведен в работе [17]:

$$K_i = \frac{IC_{50}}{1 + [L_0]/K_Д} . \qquad (1.7)$$

Ее значение зависит как от природы лиганда, так и от условий ее определения (концентрации радиолиганда, параметров $K_Д$ и B_m специфического связывания ^{3}H-диазепинов с СМ, и т. д.). В табл. 1.2 даны величины K_i ряда 1,4-бенздиазепин-2-онов. Для приведенных в табл. 1.2 1,4-бенздиазепинов наблюдается значительное отклонение величин K_i в зависимости от условий эксперимента (табл. 1.3). Поэтому сравнивать значения констант ингибирования БД и других конкурентов, полученных разными авторами, можно только в том случае, если K_i определена в аналогичных экспериментальных условиях (табл. 1.3). Несоблюдение этого условия приводит к ситуации, отраженной в табл. 1.3.

Связывание БД с БДР характеризуется обратимостью, быстрой кинетикой связывания, специфичностью (включая стереоспецифичность) и насыщаемостью [21, 35]. Специфическое связывание

Таблица 1.2. **Ингибирование специфического связывания ^{3}H-БД с синаптическими мембранами мозга крыс некоторыми 1,4-бенздиазепинами**

Препарат	K_i специфического связывания с БДР, нмоль	
	^{3}H-диазепам	^{3}H-флюнитразепам
Клоназепам	1,5 [20;] 1,9 [21]; 6,3 [32]; 3,1 [35]	1,2 [21]; 1,4 [32]; 1,0 [27]; 0,34 [22]
Флюнитразепам	2,8 [20]; 2,8 [21]; 3,1 [33]	1,8 [21]; 0,75 [22]; 2,3 [27]
Лоразепам	2,7 [20]; 3,3 [21]; 1,7 [34]; 4,3 [33]	1,8 [21]
Диазепам	6,3 [20]; 8,9 [21]; 3,2 [33]	4,7 [21]; 11 [32]; 5,2 [27]
Нитразепам	6,4 [20]; 19,2 [21]; 4,4 [34]; 21 [33]	10 [21]
Флюразепам	11 [20]; 16 [21]; 4,6 [34]; 17,2 [33]	15 [22]
Оксазепам	14 [20]; 49 [21]; 49 [33]	—
Бромазепам	12 [20]; 30 [21]; 13 [34]; 29 [33]	26 [21]
Хлордиазепоксид	220 [20]; 574 [21]; 216 [34]; 390 [32]; 662 [33]	412 [21]; 460 [32]; 227 [27]
Медазепам	600 [20]; 3850 [21]; 485 [34]; 2200 [32]; 3840 [35]	1200 [32]

Таблица 1.3. **Концентрация радиолиганда и характеристики специфического связывания ^{3}H-диазепама с БДР**

Параметр	Литературный источник					
	[20]	[21]	[34]	[32]	[33]	[23]
$[L_F]$, нмоль	1,5	1,9	2,0	0,3	1,6	1,5
$K_Д$, нмоль	3,6	3,4	3,0	6,1	2,6	7,0
B_m, пмоль/мг	0,31	46 *	0,44	0,95	18 *	1,2

* Выражено в пмоль/г ткани.

^{3}H-диазепама IV

IV

с мембранами ткани головного мозга отличается насыщаемостью (~50 нмоль), равновесной константой диссоциации $K_Д$ (5 нмоль) и практически полной обратимостью [21, 35]. ^{3}H-флюнитразепам

V обладает большой аффинностью ($K_Д$ 0,5—2,5 нмоль) и связывается с большим количеством мест.

V

Он широко используется для изучения БДР [36].

1.3. Гетерогенность БДР

Высокоаффинное связывание БД присуще не только тканям ЦНС, но и периферическим органам и тканям (сердце, печень, нос, почки, сывороточный альбумин, мышцы, тромбоциты и др.) [34, 37—41], которые отличаются фармакологическими и биохимическими свойствами, а по аффинности в 10 тыс. раз уступают БДР ЦНС [41—43].

При изучении специфического связывания ^3H-диазепама с неочищенными фракциями мембран сердца, почек и других органов человека и животных установлено, что процесс связывания характеризуется насыщением и обладает одним типом участков связывания. Специфический лиганд центральных БДР (ЦБДР) клоназепам не конкурировал за места специфического связывания, и эти участки были отнесены к периферическим БДР (ПБДР) [40].

Максимальная плотность ПБДР отмечается в коре надпочечников, незначительная часть их расположена в мозговом слое. Соотношение количества ПБДР в нейрогипофизе и передней доле гипофиза составляет 3,2 : 1,0.

С помощью специфического лиганда — производного изохинолинкарбоксамида РК 11 195 (VI), который эффективно вытеснял ^3H Ro 5 — 4864 (VII) из мест специфического связывания, содержащихся в коре головного мозга крысы, доказано наличие ПБДР в мозге [44].

VI

VII

Ауторадиографическими исследованиями установлено, что ПБДР расположены в обонятельной луковице, срединном возвышении, хариоидном сплетении и эпендиме [45]. Они содержатся также в тканях глаз животных и человека — наибольшая их плотность наблюдается в роговице и ресничном теле [46].

Молекулярная субъединица ПБДР из почек крыс составляет 34 000 Д [47].

Необходимо отметить высокую специфичность ЦБДР. Более 500 препаратов, принадлежащих к различным фармакологическим классам, не проявили выраженной тропности к ним. Найдены тропные к ЦБДР соединения небензодиазепиновой структуры, обладающие одновременно свойствами агонистов и антагонистов БД [1—4, 48—52]. При изучении связывания ^3H-диазепама с БДР, выделенных из мозжечка и гиппокампа крысы в присутствии CL 218872 (VIII), идентифицированы два типа ЦБДР — I и II [59].

F_3C N N N N CH_3

VIII

Локализованные преимущественно в мозжечке ЦБДР I, в отличие от ЦБДР II, характеризуются высоким сродством к CL 218 872. Высокая специфичность связывания с ЦБДР свойственна также β-карболинам (IX)

O OR N N H

IX

Соотношение количеств ЦБДР I и ЦБДР II при этом составляет 10 : 1 [54].

Анализ кинетики связывания БД с БДР и диссоциации образующихся при этом комплексов, по мнению авторов [55], свидетельствует о существовании единственной популяции ЦБДР, которая наблюдается в виде двух взаимопревращающихся конформаций — высоко- и низкоаффинной. Переход одной конформации в другую осуществляется при термической изомеризации. Конформационные переходы индуцируются агонистами и антагонистами БД и зависят от ГАМК, анионов хлора и температуры.

При 37 °C удается обнаружить лишь один тип ЦБДР, что связано с переходом двух типов рецепторов в структуру с одинаковым сродством к CL 218 872 и пропил-β-карболин-3-карбоксилату (X) [56]

O O CH_3 N N H

X

При этой температуре наблюдается межрегиональная гетерогенность БДР, а внутрирегиональная отмечается только при 0—4 °С и обусловлена различными конформационными состояниями одного и того же типа рецепторов [57].

Молекулярная масса (*M*, Д) порядка 220 000—270 000, соответствующая наиболее устойчивой части ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля, состоящего из четырех субъединиц с $M = 50\,000—60\,000$, определялась методами радиационной инактивации и гель-хроматографии солюбилизированных различными детергентами синаптосов мозга (СМ), содержащих БДР. Характеристики связывания специфических для БДР радиолигандов с солюбилизированными и мембранно-связанными БДР практически не изменялись [1—4, 48].

Методами фотоаффинной метки и электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия показано, что ^{3}H-флюнитразепам связывается с полипептидами различной массы. Так, на полипептид с $M = 51\,000$ в мозжечке приходится 90 % связанной метки, в коре — 70 % и гиппокампе — 50 %. Оставшуюся долю ковалентно связанной метки составляет полипептид с $M = 53\,000—59\,000$, ЦБДР I имеет $M = 51\,000$, а ЦБДР II — 55 000 [59—60].

В работе [58] в результате успешной дифференциальной солюбилизации и хроматографической очистки из мембран мозга выделены два типа БДР. По предположению авторов этой статьи, один из них имеет пост-, а другой — пресинаптическую локализацию.

В 1982 г. были описаны еще два типа ЦБДР. Локализованные в мозге высокоаффинные ЦБДР III характеризуются высоким сродством к этил-β-карболин-3-карбоксилату и низким — к CL 218 872 [61]. В мозге крыс обнаружены и низкоаффинные ЦБДР IV, отличающиеся от других ЦБДР характеристиками связывания радиолигандов. Они чувствительны к сравнительно высоким (на уровне микромолей) концентрациям БД. Существенной особенностью этих рецепторов является то, что связывание с ними БД-антиконвульсантов, а также фенетоина (XI) коррелирует с их фармакологической активностью по тесту максимального электрошока.

O, HN, NH, O

XI

Полагают, что ЦБДР IV локализованы на пресинаптических мембранах и сопряжены с Ca^{+2} потенциалзависимыми каналами [62].

По отношению к действию на БДР ГАМК и хлоридов выделено четыре типа БДР. Для первого типа рецепторов наблюдается увели-

чение степени связывания диазепама, нитразепама, медазепама в присутствии ГАМК или хлоридов и при их сочетании, а для второго типа рост связывания лоразепама, оксазепама, инозина, CL 218 872 происходит только в присутствии ГАМК. Если при добавлении хлоридов степень связывания ^{3}H-β-карболинов с БДР возрастает, а при совместном применении ГАМК и хлоридов отмечается снижение степени связывания с БДР, то это третий тип БДР, а если ГАМК и хлориды практически не оказывают влияния на значение величины связывания ^{3}H-радиолигандов с БДР — четвертый тип БДР, специфически связывающих никотинамид и, возможно, коразол.

Как и в случае периферических БДР, функциональное назначение каждого из типов ЦБДР остается до конца невыясненным.

1.4. Типы экзогенных лигандов БДР

В настоящее время известен ряд агонистов БДР — соединений различных классов, связывающихся с БДР и обладающих бенздиазепиноподобными свойствами, т. е. вызывающих анксиолитические, противосудорожные, миорелаксантные и седативные фармакологические эффекты. Кроме 1,4-бенздиазепинов (XIV), агонистами БДР являются триазолобензодиазепины (XII, XIII), пиразолохинолины (XIX), триазолопиридазины (VIII) (CL 218872), 1,5-бенздиазепины (XV), никотинамид (XVII) и др. [1—4, 63—65]:

XII

XIII

X=O,S,2H

XIV

XV

XVI

XVII

Найдены обратные (инверсные) агонисты — высокоаффинные к БДР соединения, вызывающие у экспериментальных животных судороги. К ним относятся некоторые эфиры β-карболин-3-карбоновой кислоты [64—65]:

Известны соединения, проявляющие высокое сродство к БДР и являющиеся антагонистами как бензодиазепинов, так и обратных агонистов: имидазодиазепины (XXII—XXVI), пиразолохинолин (XXVII), β-карболин (XXVIII) [63—66]. Они конкурентно блокируют фармакологические и биохимические проявления БД и β-карболинов.

XXV XXVI

XXVII XXVIII

Известны также частичные (парциальные) антагонисты БДР-вещества, проявляющие лишь некоторые свойства БД из широкого спектра их фармакологического действия [1—4, 35]. К ним относится, например, производное изохинолина (VI) (РК 11195).

Тропные к БДР вещества, обладающие анксиогенными и проконвульсантными свойствами, Бреструп с сотр. [67] относят к частичным обратным (парциальным инверсным) агонистам. К ним относится препарат FG 7142 (XXIX)

XXIX

Постсинаптические агонисты ГАМК: мусцимол (XXX), изогувацин (XXXI), трансаминокротоновая кислота (XXXII) увеличивают аффинность БДР, свидетельствуя о существовании функциональной связи между ГАМК- и БД-рецепторами [1—4, 35, 63, 68].

XXX XXXI XXXII

Специфические ингибиторы нейронального, глиального обратного захвата, транспорта, синтеза и распада ГАМК, не взаимодействуя с постсинаптическими ГАМКР, стимулирующего влияния на связывание ^{3}Н-БД с БДР не оказывают. Постсинаптический антагонист

ГАМК — бикукуллин (XXXIII) не взаимодействует с БДР, блокируя стимулирующее действие ГАМК и ее агонистов на связывание ^{3}H-БД с БДР [1—4, 63, 68].

XXXIII

При изучении связывания ^{3}H-агонистов, ^{3}H-БД с СМ показано, что регуляция аффинности БДР осуществляется посредством низкоаффинных $ГАМК_{A_2}Р$ [3]. В свою очередь, БД способны увеличивать аффинность ГАМКР. При этом стимулирующий эффект БД не блокируется бикукуллином и пикротоксином [4].

БД-стимуляция фармакологически специфична, поскольку обратные агонисты или антагонисты БДР конкурентно блокируют эффекты БД. На основании данных по взаимному влиянию агонистов и антагонистов ГАМК и БД сформулировано понятие ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля [3,4].

Изучение действия агонистов, полных и частичных антагонистов привело к синтезу новых фармакологически интересных соединений, отличных по структуре от БД, а также антагонистов и обратных агонистов. Выявлены препараты, обладающие смешанными свойствами агонистов и антагонистов Ro 16—6028, Ro 17—1812 [69].

В результате изучения кристаллической структуры и квантово-химических расчетов молекул Ro 15—1788, CGS — 8216 и ряда производных β-карболинов (агонистов и антагонистов) определены общие топологические признаки в структуре, ответственные за взаимодействие этих соединений с БДР [70]. В работе [71] рассмотрены варианты взаимодействия молекул β-карболинов с рецептором вследствие образования водородных связей и анион-катионных взаимодействий с остатками гистидина, глутамина, аспартата и лизина, входящих в состав лигандсвязывающего участка БДР.

Выявление и изучение агонистов, частичных и обратных агонистов, антагонистов, наряду с изучением функций БДР и установлением структуры БДР, позволит, очевидно, не только найти новые высокоэффективные препараты со свойствами бензодиазепинов, но и синтезировать психотропные препараты с высокоспецифичным действием: противосудорожным, анксиолитическим либо седативно-гипнотическим.

1.5. Проблема эндогенного лиганда

Наиболее интересным и трудным оказалось выделение и идентификация эндогенного лиганда к БДР. Его поиск начался сразу после открытия рецепторов. Эндогенный лиганд должен удовлетворять

2 7--2934

следующим критериям [72]: находиться в областях головного мозга, где имеются БДР; конкурентно ингибировать связывание БД; воспроизводить биохимические и нейрофизиологические эффекты БД или противоположные им; при введении животным вызывать фармакологические и поведенческие эффекты БД или противоположные им; подвергаться метаболическим превращениям, накапливаться и освобождаться нервной тканью; присутствовать в концентрациях, соответствующих связывающей способности рецептора. Открытие такого лиганда позволило бы окончательно считать места специфического связывания БД в мозге человека и животных соответствующими рецепторами. Остальным требованиям, предъявляемым к рецепторам, они соответствуют.

Со времени открытия специфических мест связывания БД в мозге животных и человека не ослабевает интерес к поиску возможных эндогенных лигандов БДР. Приводились убедительные данные о способности ряда эндогенных веществ ингибировать связывание БДР и обладать бензодиазепиноподобным или противоположным фармакологическими эффектами. Это тромбоксан A_2 (XXXVI), пурины [гипоксантин (XXXV), инозин (XXXIV)] и пуриновые нуклеотиды, протеины и пептиды, простагландины (XXXVII — XLIII) и β-карболины (IX), производные аминокислот, никотинамид, амины и др. [1—4, 64—65, 73—74].

XXXIV

XXXV

XXXVI

XXXVII

XXXVIII

XXXIX

XL

XLI

XLII

XLIII

Инозин и гипоксантин были первыми претендентами на роль эндогенных лигандов БДР. Однако низкий аффиннитет к БДР и отсутствие воспроизводимости биохимических и нейрофизиологических эффектов БД не позволили им занять это место. Не отвечают также критериям эндогенного лиганда тромбоксан A_2 и никотинамид.

В качестве эндогенных лигандов БДР рассматриваются β-карболины, фармакология которых изучена достаточно широко. Установлено, что β-карболины (норгарман (XLV), гарман (XLIV), гармин (XLII), гармол (XLVI) и др.) с невысоким аффиннитетом взаимодействуют с БДР. Они могут служить обратными агонистами БДР, вызывая судороги. Возможно, ЦБДР — рецепторы тревоги. Эндогенный лиганд (вероятно, производное β-карболина) вызывает чувство тревоги. В этом случае БД — антагонисты этих рецепторов [72, 75—77].

XLIV

XLV

XLVI

XLII

Этил-β-карболин-3-карбоксилат проявляет свойства смешанного агониста — антагониста. С одной стороны, он блокирует действие БД, а с другой — действует аналогично БД [76—77]. Некоторые протеины и пептиды также рассматриваются в качестве эндогенных лигандов. ГАМК-модулин, выделенный из синаптосомальной фрак-

ции, неконкурентно ингибирует связывание не только ^{3}Н-БД, но и имеет высокую тропность к ГАМКР [1—4, 78—79].

В 1978 г. из мозга свиньи было выделено два пептида с $M = 1000$ и $M = 30\,000—700\,00$, затем из мозга быка был извлечен пептид с $M = 1800$. Эти пептиды рассматривались в качестве эндогенных лигандов БДР. Они ингибируют связывание меченных 1,4-бенздиазепинов и являются предшественником искомого эндогенного лиганда [80]. В 1980 и 1981 гг. из мозга крупного рогатого скота выделена пептидная фракция с $M = 3000$ [50], внутрибрюшинное введение которой вызывало фармакологические эффекты БД. Ингибирование связывания меченных БД было конкурентным и концентрационно-зависимым.

В 1983 г. из мозга крысы и человека был выделен и тщательно очищен нейропептид DBI, содержащий 104 аминокислоты, две октапептидные цепи. Расшифрована последовательность и состав 52 аминокислот. Большая молекулярная масса, сравнительно низкая аффинность, судорожные свойства DBI свидетельствуют о том, что он является, возможно, предшественником эндогенного лиганда БДР [81—83].

Из мозга животных и человека выделен и очищен еще один полипептид с $M = 11000$, который конкурентно ингибирует связывание меченных лигандов БДР и не влияет на таковое ГАМК. Данный полипептид, очевидно, играет модулирующую роль в функционировании ГАМКР [84].

Таким образом, все исследователи, выделявшие и изучавшие пептидные фракции мозга животных и человека, ингибирующие специфическое связывание меченных БД, придерживаются мнения, что выделенные пептиды являются предшественниками или фрагментами лиганда БДР. В дальнейшем необходимо продолжить исследования по изысканию новых методов выделения и очистки пептидных фракций из мозга для выяснения химической природы эндогенного лиганда БДР.

1.6. Рецепторно-ионофорный ансамбль

При изучении механизма действия бензодиазепинов установлено, что их основные фармакологические эффекты реализуются через БДР, сопряженные с постсинаптическими рецепторами ГАМК за счет увеличения частоты открывания ГАМК-зависимых хлорных каналов. БД выполняют модуляторную функцию по отношению к ГАМКР, повышают аффинность ГАМКР, что обусловливает возрастание специфического связывания ГАМК [1—4].

БДР аллостерически связаны с ГАМКР, местами связывания барбитуратов, пикротоксина и хлорным каналом. В отличие от ЦБДР периферические БД-рецепторы связываются с БД ГАМК независимо [85]. Этим объясняется влияние на связывание БД с БДР хлор-ионов, ГАМК, ее агонистов и антагонистов и барбитуратов [86].

При солюбилизации и тщательной очистке БДР разделение связывания ГАМК и БД не достигается [86]. Бернарду с сотрудниками

удалось выделить из мозга быка, крысы и цыпленка белок с $M = 220\,000$, содержащий места связывания БД, их агонистов и антагонистов, ГАМК, ее агонистов и антагонистов, барбитуратов и хлоридзависимых конвульсантов.

Выделив из мозга *м*-РНК, кодирующую данный белок, авторы работы [68] с ее помощью осуществили синтез белка, обладающего регуляторными функциями нативного белка.

В соответствии с современными представлениями молекулярный механизм действия анксиолитиков, противосудорожных и гипноседативных средств, тропных к БДР, обусловлен их взаимодействием с супрамолекулярным рецепторно-ионофорным комплексом. Более адекватным термином в данном случае является рецепторно-ионофорный ансамбль.

На основе изучения функциональной зависимости действия БД, агонистов, антагонистов, инверсных агонистов и других веществ на БДР-ГАМК-ионофорный ансамбль были предложены гипотетические модели последнего. Согласно исследованиям [87—91], он состоит из четырех пептидных субъединиц, каждая из которых имеет по крайней мере три участка специфического связывания: управляющий анионным каналом, ГАМК и БД связывающие области.

В присутствии БД проходит активация $ГАМК_АР$, приводящая к открытию хлорного канала, гиперполяризации постсинаптической мембраны, которая сопровождается усилением ГАМК-ергической синаптической передачи, ведущей к увеличению устойчивости нейронов к возбуждающим сигналам. При этом бенздиазепины ингибируют связывание ГАМК-модулина (эндогенного модулятора ГАМКР). Таким образом, БД регулируют активность всего рецепторно-ионофорного ансамбля, изменяя сродство с ГАМКР ГАМК-модулина [92]. Особенности данного ансамбля будут рассмотрены ниже (глава 2).

Вместе с тем показано, что пирацетам и мебикар (транквилизатор) могут осуществлять анксиолитическое действие без участия БДР, а седативный (антиконвульсивный) эффект БД, возможно, обусловлен ускорением распада аденозиновых производных пуринов. Таким образом, в реализации седативного эффекта БД значительная роль принадлежит и пуринергическим механизмам [93—94]. В больших дозах БД могут взаимодействовать с большинством медиаторных процессов в ЦНС [95].

Несмотря на достигнутые успехи в изучении структуры БДР, механизма действия БД, до сих пор многие вопросы этой проблемы до конца не выяснены: структура рецептора, структурные, стерические и электронные требования к БД, определяющие аффинность их к БДР, и др. Их решение в комплексе с изучением физико-химических, фармакологических свойств, аффинности и механизма действия в ряду производных бензодиазепина и родственных систем — чрезвычайно актуальная задача. Выяснение этих закономерностей позволит значительно сократить затраты на поиск и создание препаратов, действующих на ЦНС, глубже познать молекулярные механизмы важнейших нейрофизиологического действия экзо- и эндогенных психофармакологически активных веществ.

1. *Корнеев А. Я., Мухин Р. Г.* Рецепторно-лигандные взаимодействия в ЦНС // Вестн. АМН СССР.— 1981.— № 4.— С. 56—69.
2. *Корнеев А. Я., Мухин Р. Г., Фактор И. И.* Молекулярные механизмы фармакологического действия бензодиазепинов // Там же.—1982.—№ 1.—С. 20—27.
3. *Корнеев А. Я., Лидеман Г. Р.* Бензодиазепиновые рецепторы и постсинаптические ГАМК-рецепторы: свойства и взаимодействие // Успехи соврем. биологии.— 1985.— **100**, вып. 1 (4) — С. 51—67.
4. *Сергеев П. В., Шимановский Н. Л.* Фармакология бензодиазепиновых рецепторов // Фармакология и токсикология.— 1986.— **49**, № 4. — С.108—114.
5. *Autoradiographic* and quantitative study of benzodiazepinebinding sites in human hippocampus / M. Manchon, N. Kopp, P. Bobillier et al.// Neurosci. Lett.— 1985.— **52**, N 1.— P. 25—30.
6. *Braestrup C., Squires R. P.* Specific benzodiazepine receptor in rat brain characterized by high-affinity (^{3}H) diazepam binding // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1977.— **74**, N 4.— P. 3805—3809.
7. *Connard P.* Benzodiazepines of receptor gliaux // Trab. Inst. Cadal. — 1981.— **72**, N 1.— P. 41—54.
8. *Guidotti A., Toffano G., Costa E.* Endogenous protein modulates affinity of GABA and benzodiazepine receptors in rat brain // Nature.— 1978. — **275**, N 5680.— P. 533—555.
9. *Karobath M., Spar G.* Stimulation of benzodiazepine-receptor binding by GABA // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1979.— **76**, N 2. — P. 1004—1008.
10. *Tallman J. F., Thomas W.* Galager GABA-ergic modulation of benzodiazepine binding site sensitivity // Nature.— 1977.— **274**, N 5675— P. 383—385.
11. *Braestrup C., Albrechteen R., Squires R. F.* High densities of benzodiazepine receptors in human cortical areas // Ibid.— **269**, N 5628.— P. 702—704.
12. *Benzodiazepine* receptors in brain / C. Braestrup, N. Nielsen, R. F. Squires et al.// Acta psychiat. Scand.— 1978.— **274**, N 1.— P. 27—32.
13. *Tolhert L. C.* Mechanism of action of benzodiazepines // J. Med. Chem.— 1980.— **17**, N 2.— P. 168—170.
14. *Chang R. S. L., Tran Winh T., Snyder S. H.* Neurotransmitter receptor localisations: brain lesion induced alternations in benzodiazepine GABA-adrenergic and histamine H-receptor binding // Brain Res.— 1980.— **190**, N. 1.— P. 95—110.
15. *Turner A. J., Whittle S. R.* Biochemical dissection of the GABA synapse // Biochem. J.— 1983.— **209**, N 1.— P. 29—41.
16. *Möhler H., Battersly M. K., Richards J. G.* Benzodiazepine receptor protein identified and visualized in brain tissue by a photoaffinity label // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1980.— **77**, N 3.— P. 1666—1670.
17. *Варфоломеев С. Д., Зайцев С.В.* Кинетические методы в биохимических исследованиях.— М. : Изд-во Моск. ун-та, 1982.— С. 314—324.
18. *Долс Э.* Количественные проблемы биохимии.— М. : Мир, 1983.— С. 105—107.
19. *Yamamura H. J., Enma S. J., Kuher M. J.* Neurotransmitter receptor binding.— New York : Raven press, 1984.— P. 1—84.
20. *Möhler H., Okada T.* Benzodiazepine receptor: Demonstration in the central nervous system // Science.— 1977.— **198**, N 4320.— P. 849—857.
21. *Braestrup C., Squires R. F.* Brain specific benzodiazepine receptor // Brit. J. Psychiat.— 1978.— **133**, N 2.— P. 249—260.
22. *Sperth R. C., Wasten G. J., Yamamura H. J.* Benzodiazepine receptors: temperature dependence of ^{3}H-flunitrazepam binding // Life Sci.— 1979.— **24**, N 4.— P. 351—358.
23. *Möhler H., Okada T.* Biochemical identification of the site of action of benzodiazepine in human brain ^{3}H-diazepam binding // Ibid.— 1978.— **22**, N 11.— P. 985—996.
24. *Жарковский А. С.* Необходимость правильного выбора концентраций свободного лиганда при определении параметров связывания бензодиазепинов // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1986.— № 9.— С. 298—301.
25. *Klotz J. M.* Numbers of receptor sites from Scatchard graphs: facts and fantasies // Sciences.— 1982.— **217**, N 4570.— P. 1247—1249.

26. *Черняев Т. А.* Использование конкурентного ингибирования для определения констант ассоциации // Биоорган. химия.— 1979.— № 6.— С. 861—868.
27. *Chang R. S. L., Snyder S. H.* Benzodiazepine receptors: labeling in intact animals with ^{3}H-flunitrazepam // Eur. J. Pharmacol.— 1978.— 48, N 2.— P. 213—218.
28. *Munson P. J., Redbard D.* Number of receptor sites from Scatchard and Klotz graphs : A. constructive eritique // Science.— 1983.— 222, N 4627.— P. 979—981.
29. *Poul S. M., Houger R. L., Hulihan-Gibbin B. A.* Analyzing non-linear scatchard plots // Sciences.— 1984.— 223 N 4631.— P. 76—78.
30. *Siiteri P. K.* Receptor binding studies // Sciences.— 1984.— 223, N 4632.— P. 191—193.
31. *Steven M. P., Bridget A. C.* Amphetamine binding to rat hypothalamus // Ibid.— 1982.— 218, N 4571.—P. 487—490.
32. *^{3}H-Flunitrazepam:* its advantages as a ligand for the identification of benzodiazepine receptors in rat brain membranes / H. W. Damm, W. E. Muller, V. Schlafer et al.// Res. Commun. Chem. Pathol. and Pharmacol.— 1978.— 22.— N 3.—P. 597—600.
33. *Squires R. F., Braestrup C.* Benzodiazepine receptors in rat brain // Nature.— 1977.— 266, N 5604.— P. 732—734.
34. *Detection* and determination of pharmacologically active benzodiazepines in rat brain after the administration of 2-*o*-chlorobenzyl-4-chloro-N-methyl-N-glycylglycinanilide using a combination of HPLC and radioreceptorassay / Masfumi Fujimoto, Yuji Tsukinoki, Tatsumi Hirose et al.// Chem. Pharm. Bul.— 1980.— 28, N 5.— P. 1378—1386.
35. *Möhler H., Okada T.* Benzodiazepine receptor in normal and pathological human brain // Brit. J. Psychiat.— 1978.— 133, N 2.— P. 261—268.
36. *Chin T. H., Rosenberg H. C., Howard C.* Comparison of the kinetic of ^{3}H-flunitrazepam binding to cortical synaptosomal membranes // J. Neurochem.— 1982.— 39, N 6.— P. 1716—1725.
37. *Broderson R., Sjodin T., Sjocholm J.* Independent binding of ligands to human serum albumin // J. Biol. Chem.— 1977.— 252, N 11.— P. 5067—5078.
38. *Michael W.* Anxioselective Anxiolytics // J. Med. Chem.— 1983.— 26, N 5.— P. 619—628.
39. *Muller W., Wollers U.* Characterization of the binding of benzodiazepine to human serum albumin / Schmideberg's Arch. Pharmacol.— 1973. — 280, N 3.— P. 229—237.
40. *Taniguchi T., Wang J. K. T., Spector S.* ^{3}H-Diazepam binding sites on rat heart and kidney // Biochem. Pharmacol.— 1982.— 31, N 4.— P. 589—590.
41. *Peripheral type* benzodiazepine receptors : Autoradiographic localisation in whole-body sections of neonatal cats / R. H. Anholt, E. B. De Sousa, M. L. Oster Gramite et al.// J. Pharmacol. and Exp. Ther.— 1986.— 233, N 2.— P. 517—526.
42. *Patel J., Marancos P. J.* Differential effect of GABA on peripheral and central type benzodiazepine binding sites in brain // Neurosci. Lett.— 1980.— 30, N 12.— P. 157—160.
43. «*Peripheral* type» benzodiazepine binding sites in rat adrenals: binding studies with ^{3}H PK 11195 and autoradiographic localisation / J. Benavides, C. Malgouris, F. Imbault et al.// Arch. Inter. Pharmacodyn. et Thér.— 1983.— 266, N 1.— P. 38—49.
44. *Taniguchi T., Wang J. K. T., Spector S.* Properties of ^{3}H-diazepam binding to rat peritoneal mast cells // Life Sci.— 1980.— 27, N 2.— P. 171—178.
45. *Labelling* of «peripheral type» benzodiazepine binding sites in the rat brain by using ^{3}H PK 11195 as isoquinoline carboxamide derivatives: kinetic studies and autoradiographic localisation / J. Benavides, D. Quarteronet, F. Imbault et al. // J. Neurochem.— 1983.— 41, N 6.— P. 1744—1750.
46. *Hirsch J. D.* Peripheral and central type benzodiazepine binding sites in mammalation ocular tissues // Exp. Eur. Res.— 1984.— 38, N 1.— P. 101—104.
47. *Paul S. M., Kempner E. C., Skolnick P.* In situ molecular weight determination of brain and peripheral benzodiazepine binding sites // Eur. J. Pharmacol.— 1981.— 76, N 4.— P. 465—466.

48. *Sieghart W., Schuster A.* Affinity of various ligands for benzodiazepine receptors in rat cerebellum and hyppocampus // Biochem. Pharmacol.— 1984.— 33, N 24.— P. 4033.— 4088.
49. *Karobath M.* Interaction of benzodiazepine receptors agonist and inverse agonist with the GABA blnzodiazepine receptor complex // Pharmacol. Biochem. and Behav.— 1985.— 23, N 4.— P. 671—674.
50. *Benzodiazepine* receptor ligands with positive and negative efficacy / C. Braestrup, N. Nielsen, T. Honore et al.// Neuropharmacology.— 1983.— 22, N 12.— P. 1451—1457.
51. *Williams M.* Anxioselective anxiolytics // J. Med. Chem.— 1983.— 26, N 5.— P. 619—628.
52. *Martin J. L.* The benzodiazepine receptor: functional complexity // Trends Pharmacol. Sci.— 1984.— 5, N 8.— P. 343—347.
53. *Resolution* of two biochemically and pharmacologically distinct benzodiazepine receptors / C. A. Klepner, S. A. Lippa, D. L. Benson et al.// Pharmacol. and Biochem. Behav.— 1979.— 11, N 4.— P. 457—462.
54. *Korneyev A. Ya.* Characterization of solubilized benzodiazepine and muscimol binding sites from rat brain // Neuropharmacol.— 1982.— 21, N 12.— P. 1355—1358.
55. *Chiu T. H., Rosenberg H. C.* Multiple conformational state of benzodiazepine receptor // TIPS.— 1983.— N 8.— P. 348—350.
56. *Some* properties of brain specific benzodiazepine receptors: new evidence for multiple receptors / P. F. Squires, D. J. Benson, C. Braestrup et al.// Pharmacol. Biochem. Behav.— 1979.— 10, N 6.— P. 825—833.
57. *Gee K. W., Yamamura H. L.* Regional heterogeneity of benzodiazepine receptors at 37 °C and in vitro study in various regions of the rat brain // Life Sci.— 1982.— 31, N 18.— P. 1939—1945.
58. *Lo M. M. S., Strittmatter S. M., Snyder S. H.* Physical separation and characterization of two types of benzodiazepine receptors // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1982.— 79, N 2.— P. 680—684.
59. *Sieghart W., Karobarth M.* Molecular heterogeneity of benzodiazepine receptor // Nature.— 1980.— 286, N 5770.— P. 285—290.
60. *Chang Li-Ron, Barnard E. A.* The Benzodiazepine/GABA receptor complex: molecular size in brain synaptic membranes and in solution // Neurochem.— 1982.— 39, N 6.— P. 1507—1518.
61. *Squires R. F.* Benzodiazepine receptors // Handook Neurochemie.— London; New York, 1984.— P. 261—306.
62. *Bowling A. C., De Louze R. J.* Micromolar affinity of benzodiazepine receptors: identification and characterization in central nervous system // Science.— 1982.— 216, N 4551.— P. 1247—1250.
63. *Бенздиазепины,* аффинность к рецепторам, их эндогенные лиганды, моделирование новых психотропных препаратов / Т. А. Воронина, С. А. Андронати, Р. А. Ахундов, В. М. Чепелев // Вестн. АМН СССР.— 1984.— № 11.— С. 13—20.
64. *Airakaksinen M. M.* Affinity of β-carbolines on rat brain benzodiazepine and opiate binding site // Med. Biol.— 1980.— 58, N 6.— P. 341—346.
65. *Oakley N. R., Jones B. J.* Differential pharmacological effects of β-carboline-3-carboxylic esters // Neuropharmacology.— 1982.— 21, N 6. — P. 587—589.
66. *Codding P. W., Muir A. K. S.* Molecular structure of Ro 15—1788 and a modelle for the binding of benzodiazepine of receptor ligands. Structural identification of common features in antagonists // Mol. Pharmacol.— 1985.— 28, N 2.— P. 178—184.
67. *Ligands* for benzodiazepine receptors with positive and negative affinity / C. Braestrup, T. Honore, M. Nielsen et al.// Biochem. Pharmacol.— 1984.— 33, N 6.— P. 259—262.
68. *The GABA* receptor complex: purification analysis and reconstitution of the proteins and their production from messenger RNA / E. A. Barnard, C. Bilbe, C. Mamalaki et al.// Inter. Symp. Front. in Bioorgan. Chem. and Mol. biology: Abstracts.— Moscow; Alma-Ata, 1984.— P. 102.
69. *Gut J. P., Laurent J. P., Mezz W. A.* Perspectives actuelles des benzodiazepines // Thérapie.— 1986.— 41, N 1.— P. 31—35.

70. *Theoretical* structure-activity studies of β-carboline analogs. Requirements for benzodiazepine receptor affinity and antagonist activity / G. H. Loew, J. Nienow, J. A. Lawson et al. // Mol. Pharmacol.— 1985.— 28, N 1.— P. 17—31.
71. *Codding P. W., Muir A. K. S.* Molecular structure of Ro 15—1788 and a model for binding of benzodiazepine receptor ligands // Ibid.— P. 178—184.
72. *Idee J. M.* Hypotheses actuelles concernant les ligands endogenes des recepteurs des benzodiazepines // Sci. et techn. pharm.— 1982.— 11, N 2.— P. 54—59.
73. *Влияние* 5-метил-1,2-дигидро-3Н-1,4—бенздиазепина-2-онов на связывание ^{3}Н-диазепама с бенздиазепиновыми рецепторами и их психотропные свойства / С. А. Андронати, Т. А. Воронина, В. М. Чепелев и др.// Хим.-фармацевт. журн.— 1983.— № 11.— С. 1296 — 1300.
74. *Asano T., Ogasawara N.* Prostaglandins A as possible endogenous ligands of benzodiazepine receptor // Eur. J. Pharmacol.— 1982.— 80, N 2/3.— P. 271—274.
75. *Несовпадение* анксиолитических, седативных и противосудорожных свойств у производных гармана / И. В. Комиссаров, А. Г. Дуненко и др.// Хим.-фармацевт. журн.— 1985.— 19. № 3.— С. 172—176.
76. *Septal* activity of hippocampal thtea rhythm; role of γ-aminobutirate-benzodiazepine receptor complex in mediating effects of anxiolytics / S. Quntero, J. Melanby, M. R. Thomson et al.// Neurosci.— 1985.— 16, N 4.— P. 875—884.
77. *Antagonism* of benzodiazepine receptors by beta-carbolines / R. A. O'Brien, W. Schlosser, N. M. Spirt et al.// Life Sci.— 1981.— 29, N 1.— P. 75—82.
78. *Davis L. G., McIntosh H., Rener D.* An endogenous ligand to the benzodiazepine receptor: preliminary evaluation of the bioactivity // Pharmacol. Biochem. and Behav.— 1981.— 14, N 6.— P. 839—844.
79. *Парфенова Е. В.* Эндогенные ингибиторы ГАМК рецепторов постсинаптических мембран // Нейрохимия.— 1986.— 5, № 1.— С. 61—73.
80. *Competitive* inhibition of benzodiazepine binding by fractions from porcine brain / G. D. Cobello, D. M. Hockehery, H. B. Bossmann et al.// Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1978.— 75, N 12.— P. 6319—6323.
81. *Study* of an octadecaneuropeptide derived from diazepam binding inhibitors (DBI): Biological activity and presence in rat brain / P. Ferrero, M. R. Santi, B. Canti Tronconi et al.// Ibid.— 1986.— 83, N 3.— P. 827—831.
82. *Costa E., Corda M. G., Guidotti A.* On a brain polypeptide functioning as a putative effector for the recognition sites of benzodiazepine and beta-carboline derivatives // Neuropharmacology.— 1983.—22, N 126.— P. 1481—1492.
83. *Diazepam-binding* inhibitor: a neuropeptide located in selected neuronal populations of rat brain / N. Alho, E. Costa, P. Verrero et al.// Science.— 1985.— 228, N 4709.— P. 179—182.
84. *Isolation*, characterization and purification to homogeneity of an endogenous polypeptide with agonistic action on benzodiazepine receptors / A. Guidotti, C. M. Forchetti, M. G. Corda et al.// Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1983.— 80, N 11.— P. 3531—3535.
85. *^{3}H-Ro-4864* Benzodiazepine binding in the kainate lesiones stratum and Huntigtons diseased bazal ganglia / U. Schoemaner, M. Morelli, P. Deshmuch et al.// Brain Res.— 1982.— 128, N 2.— P. 396—401.
86. *Snyder S.* Drug and Neurotransmitter Receptors in the Brain // Science.— 1984.— 224, N 1.— P. 22—31.
87. *Fujimoto M., Hirai K., Okabayashi T.* Comparison of the effects of GABA and chloride ion on the affinities of ligands for the benzodiazepine receptor // Life Sci.— 1982.— 30, N 1.— P. 51—57.
88. *Haefely W.* Benzodiazepine interactions with GABA receptors // Neurosci. Lett.— 1984.— 49, N 1.— P. 201—206.
89. *The benzodiazepine* receptors: complex binding properties and the influence of GABA / F. J. Eglert, W. R. Roesle, S. Yamamura et al.// Adv. Biochem. Psychopharmacol.— 1983.— 36, N 1.— P. 209—220.

90. *Olsen R. W., Leeb-Lundberg F.* Convulsant and anticonvulsant drug binding sites related to GABA-regulated chloride ion channels // GABA and benzodiazepine receptors.— New York : Raven press, 1981.— Vol. 26.— P. 93—102.
91. *Theoretical* structure-activity of β-carboline analogs. Requirements for the benzodiazepine receptor affinity and antagonist activity / G. H. Loew, J. Nienow, J. Lawson et al.// Mol. Pharmacol.-- 1985.— **28**, N 1.— P. 17—31.
92. *Idee J. M.* Les recepteurs intra-cerebraux des benzodiazepines //Sci. et Techn. pharm.— 1982.— **11**, N 1.— 7—13.
93. *Damm H. W., Muller W. E., Wollert U.* Is the benzodiazepine receptor purinergic?// Eur. J. Pharmacol.— 1979.— **55**, N 3.— P. 331—333.
94. *Короткина Р. Н., Паник А. А., Карелин А. А.* Влияние бенздиазепинов на активность АМФ-дезаминазы и аденозиндезаминазы в ткани головного мозга крыс // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1986.— **102**, № 7.— С. 41—44.
95. *Garrett R. L., Bourn W. M.* Convulsant component of a depressant benzodiazepine // Life Sci.— 1985.— **37**, N 20.— P. 1933—1939.

Глава 2

СРАВНЕНИЕ ГАМК-БД-РЕЦЕПТОРНО-ИОНОФОРНОГО АНСАМБЛЯ С ДРУГИМИ КАНАЛ-РЕЦЕПТОРНЫМИ МАКРОМОЛЕКУЛАМИ

Механизмы, связанные с регуляцией ионных токов через мембрану нейрона или другой возбудимой клетки, в значительной степени определяют характер ее активности, т. е. управление каналами ионной проницаемости на клеточной мембране является одним из наиболее эффективных путей воздействия на клетку. В течение долгого времени единственным подходом, позволяющим получить информацию о свойствах ионных каналов и управлении их функциями, был электрофизиологический анализ. Только с начала 70-х годов, когда в научную практику стал внедряться радиолигандный метод, ряд рецепторов и в том числе рецепторы, расположенные на ионных каналах, стали доступны для биохимического анализа. Среди последних можно назвать Na^+/K^+-канал, управляемый никотиновым ацетил-холиновым (АЦХ) рецептором (представлен, в частности, в мионевральном синапсе), Cl^--канал, управляемый ГАМК$_А$-рецептором, Cl^--канал, управляемый глициновым рецептором (широко распространен в спинном мозге), потенциал-зависимый Ca^{+2}-канал (участвует в реализации потенциала действия в возбудимых клетках), потенциал-зависимые Na^+-каналы (реализующие начальную фазу потенциала действия и служащие мишенью действия местных анестетиков), Ca^{+2}-зависимый K^+-канал и др. В табл. 2.1 суммируются данные о лигандах, применяемых для выявления перечисленных ионофор-рецепторных комплексов, и результаты, полученные при определении молекулярных масс (M) этих комплексов.

Благодаря большому количеству фактов, накопленных при изучении Na^+/K^+-ионофор-АЦХ-рецепторного комплекса, модели строения этого комплекса характеризуются наибольшей полнотой. Такие модели рассмотрены в ряде обзоров [1,2]. Нами коротко описывается одна из наиболее подтвержденных экспериментально схем Na^+/K^+-ионофор-АЦХ-рецепторного комплекса с целью последующего сравнения с предлагаемой структурой и свойствами ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля, которому посвящена основная часть материала. Данные о возможности существования общих закономерностей в структуре и регуляции ионофор-рецепторных комплексов рассмотрены в заключительных разделах.

Таблица 2.1. **Мембранные ионофор-рецепторные комплексы**

Ионный канал	Рецептор	Лиганд *	*M*
Na^+/K^+-канал [2]	АЦХ	АЦХ (+) α-Бунгаротоксин (—)	430 000—480 000 230 000—270 000 ** (42 000)
Cl^--канал [3]	ГАМК$_A$	ГАМК (+) Бенздиазепины Пикротоксин (—) Барбитураты (+) Авермектин B_{1A} (+) R 5135 (—)	220 000—250 000 (51 000) ***
Cl^--канал [4]	Глицин	Глицин (+) Стрихнин (—) Авермектин B_{1A} R 5135	
Потенциал-зависимый Ca^{+2}-канал [5]	?	Нифедипин (—) Бай К8644 Верапамил (—) Дилтиазем (—)	250 000—290 000 (45 000)
Потенциал-зависимый Na^+ -канал [6]	?	Тетродотоксин (—) Сакситоин (—) Батрахотоксин (+) Вератридин (+) Токсин скорпиона Токсин морского анемона	600 000—800 000
Зависимый от Ca^{+2} K^+-канал [7]	?	Апамин (—)	230 000—270 000 (33 000)

Примечание: (+) — лиганд открывает канал или облегчает открывание; (—) — лиганд блокирует канал или затрудняет открывание; * — перечислены лиганды к различным местам связывания, выявленным в составе комплекса; ** — молекулярная группировка, содержащая «ворота» ионного канала; *** — молекулярная масса полипептида, входящего в состав комплекса, приведена в скобках.

2.1. Модель Na^+/K^+-ионофор-АЦХ-никотинового рецептора

Комплекс представляет собой макромолекулярную структуру с *M* в диапазоне 430 000—480 000D, состоящую, как предполагают, из восьми субъединиц [1,2]. Четыре из них идентичны друг другу, характеризуются *M* порядка 42 000, несут каждая по одному месту связывания АЦХ и, возможно, по два места связывания для α-бунгаротоксина. Другие четыре субъединицы включают, по-видимому, три разных типа молекул с *M*, равной 48 000, 59 000 и 65 000.

Na^+/K^+—ионофор-АЦХ-рецепторный комплекс встроен в постсинаптическую мембрану в виде пронизывающего ее цилиндра с центральным каналом. Выступающая с наружной стороны мембраны часть

комплекса построена из четырех симметрично расположенных идентичных субъединиц ($M = 42\,000$), несущих места связывания АЦХ.

Рассматриваемый ионофор-рецепторный комплекс удается выделить из тканей позвоночных и поддержать в растворенном состоянии только в присутствии детергентов, что указывает на его высокую липофильность. Вместе с тем аминокислотный состав белка комплекса соответствует аминокислотному составу, характерному для водорастворимых белков. Эти данные свидетельствуют о том, что распределение липофильных и гидрофильных компонентов комплекса сильно поляризовано (неравномерно). Исходя из подобных наблюдений предполагают, что наружная поверхность образуемого комплексом цилиндра, взаимодействующая с липидным матриксом мембраны, обладает высокой липофильностью, тогда как внутренняя, образующая пору (или канал), поверхность гидрофильна и способна обеспечивать проход ионов. Учитывая, что Na^+/K^+-ионофор-АЦХ-рецепторный комплекс является кислым белком (его изоэлектрическая точка соответствует pH 6,0), можно заключить, что поверхность внутреннего канала комплекса при физиологических pH заряжена отрицательно, что облегчает доступ катионов.

Существование кооперативных взаимодействий между местами связывания АЦХ, изменение аффинности мест связывания некоторых лигандов ионофор-рецепторного комплекса при изменении его функционального состояния и ряд других наблюдений предполагает высокую конформационную подвижность входящих в него субъединиц и особенно четырех наружных, непосредственно участвующих в открывании и закрывании канала. По-видимому, Na^+/K^+-ионофор-АЦХ-рецепторный комплекс способен либо существовать не менее чем в трех дискретных конформационных состояниях, либо градуально менять свою конформацию. Факторами, влияющими на предпочтительность данной конформации, являются количество присоединенных молекул АЦХ, мембранный потенциал, предшествующая активность ионофор-рецепторного комплекса и, возможно, действие протеинкиназ и фосфорилаз с внутренней стороны мембраны и различных экзо- и эндогенных модуляторов.

В ряде работ, посвященных исследованию свойств солюбилизированных мест связывания АЦХ, альфа-бунгаротоксина и *d*-тубокуранина, получены величины M порядка 230 000—280 000 [2]. В настоящее время считают, что такая группировка наиболее стабильна (устойчива к распаду и действию тканевых протеаз в процессе солюбилизации) в составе Na^+/K^+-ионофор-АЦХ-рецепторного комплекса. Она содержит места связывания АЦХ, места связывания α-бунгаротоксина и механизм, открывающий ионный канал. Вместе с тем более адекватные и хорошо контролируемые методы солюбилизации показали, что M ионофор-рецепторного комплекса соответствует 430 000—480 000. Не исключено, что аналогичная ситуация имеет место для Cl^--ионофор-ГАМК-БД-рецепторного ансамбля, свойства которого рассматриваются ниже.

2.2. Строение ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля

Различные способы определения *M* данного комплекса, как после солюбилизации, так и в интактном мембранном препарате (методом радиационной инактивации), приводят к величинам порядка 220 000 — 250 000 [3, 8, 9]. Вместе с тем были получены и такие значения *M* солюбилизированного комплекса, как 350 000, 450 000, 670 000 [9—11]. Следовательно, как и в случае Na^+/K^+-ионофор-АЦХ-рецепторного комплекса, интактный ГАМК-БД-рецепторно-ионофорный ансамбль, возможно, имеет *M* значительно больше 300 000, причем группировка с M = 220 000—250 000 наиболее стабильна в его структуре.

Если предположить существенное сходство в строении двух данных ионофор-рецепторных комплексов, группировка с M = = 220 000—250 000, входящая в ГАМК-БД-рецепторно-ионофорный ансамбль, должна обладать следующими свойствами: 1) содержать четыре идентичные субъединицы и кратное четырем число мест связывания ГАМК; 2) обладать высокой конформационной подвижностью; 3) локализоваться с наружной стороны клеточной мембраны и образовывать механизм открывания Cl^--ионофора. Это предположение в настоящее время находит все больше экспериментальных подтверждений. Так, данные ряда исследований позволяют предположить, что в состав ГАМК-БД-рецепторного ансамбля входит кратное четырем количество мест связывания ГАМК. В основе этих исследований лежит способность лиганда БД-рецепторов флюнитразепама ковалентно присоединяться к своему месту связывания при облучении ультрафиолетовым светом (фотоаффинная метка). При этом в условиях максимального насыщения флюнитразепам ковалентно присоединяется не более чем к 25 % мест связывания БД, выявляемых в ткани мозга [12, 13]. В то же время аффинность оставшихся мест связывания для бензодиазепинов падает в 10 и более раз, а для конкурентных антагонистов, как правило, не изменяется (феномен фотоаффинного сдвига). Из этих данных можно сделать вывод о том, что места связывания БД расположены группами по четыре (образуют квартет). Данные, полученные при исследовании солюбилизированного ГАМК-БД-рецепторного ансамбля, свидетельствуют о том, что в его составе количество мест связывания ГАМК как минимум в 2 раза превышает таковое для БД [3, 8, 11, 14], т. е., по-видимому, равно восьми.

Высокая конформационная подвижность ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля подтверждается также рядом наблюдений. Прежде всего это упомянутый выше феномен фотоаффинного сдвига, который свидетельствует о способности субъединиц, несущих места связывания БД, изменять конформацию (из предпочтительной для агониста в предпочтительную для антагониста) при ковалентном связывании лиганда. Подверждением этого служит существование аллостерических эффектов между различными местами специфического связывания, присутствующими в составе комплекса (табл. 2.2).

Таблица 2.2. **Взаимодействие элементов ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля** *

Вещество	Действие на Cl^--ионофор	Влияние на рецепторы			
		ГАМК$_A$	БД	Пикротоксин	Авермектин B_{1A}
ГАМК	+ Открывает		+ Активирует	Эффект не выявлен	— Ингибирует
БД	+ Активирует	+ Активирует		— Ингибирует	Эффект не выявлен
Барбитураты **	+ Активирует	+ Активирует	+ Активирует	— Ингибирует	— Ингибирует
Авермектин B_{1A} **	Активирует	— Дозозависимый эффект	+ Активирует	+ Активирует	
Пикротоксин **	— Блокирует	— Ингибирует	+ Активирует		+ Активирует
R 5135	— Ингибирует	— Ингибирует	— Ингибирует	Эффект не выявлен	
Cl^-		(—) Эффект не обнаружен	+ Активирует	+ Активирует	+ Активирует

* В каждом случае указано влияние на связывание агонистов с рецептором.
** Эффект снимается после обработки тритоном Х-100.

На конформационную лабильность ионофор-рецепторного ансамбля указывает также выраженное влияние хлорид-аниона на аффинность большинства выявленных в его составе мест специфического связывания. О конформационных перестройках ионофор-рецепторного комплекса свидетельствуют также данные об изменении M субъединицы, ответственной за связывание БД в присутствии ГАМК [15] и об ингибировании бензодиазепинами солюбилизации БДР в среде с низкой ионной силой [16], а также многочисленные данные о конформационных перестройках БД- и ГАМК-рецепторов, полученные в кинетических и термодинамических исследованиях [17].

Высокая конформационная подвижность, по-видимому, является необходимым свойством молекул, образующих ворота Cl^--ионного канала. Заключение о том, что эти ворота находятся на наружной стороне клеточной мембраны, основано на многочисленных данных, свидетельствующих, что ионофоретическая подача ГАМК во внеклеточное (но не во внутриклеточное) пространство приводит к активации Cl^--ионофора. В то же время получены заслуживающие внимания доказательства в пользу того, что макромолекулярная группировка с $M = 220\,000-250\,000$ образует не только ворота, но и целый Cl^--ионофор [8, 18]. С помощью аффинной хроматографии выделен практически чистый препарат солюбилизированного ГАМК-БД-рецепторного комплекса с $M = 200\,000-230\,000$. При встраивании этого комплекса в липидную мембрану в ней появилась ГАМК-зависимая Cl^--проводимость. В другой серии экспериментов получены антитела к солюбилизированному и очищенному ГАМК-БД-рецепторному комплексу. Когда мРНК, полученную с использо-

ванием этих антител из мозга крысы, ввели в ооциты лягушки, на их наружной мембране появились ГАМК-, БД-рецепторы и Cl^--ионный канал, управляемый ГАМК. Таким образом, ГАМК-зависимая Cl^--проводимость может обеспечиваться группировкой с M порядка 230 000, при этом Cl^--канал может быть образован двумя или тремя такими группировками.

Рассмотрим субъединичный состав ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля. Существуют убедительные данные, согласно которым за связывание БД ответствен полипептид с $M = 50\,000—55\,000$ [13, 19]. Сходные результаты получены для полипептида, связывающего ГАМК [20]. По аналогии с Na^+/K^+-ионофор-АЦХ-рецепторным комплексом, в котором места связывания АЦХ и α-бунгаротоксина расположены на одном полипептиде ($M = 42\,000$), аллостерически связаны, но не перекрываются, можно предположить, что места связывания ГАМК и БД также располагаются на одном полипептиде ($M = 50\,000—55\,000$). При этом, как следует из рассмотренных выше данных, на одно место связывания БД приходится два места связывания ГАМК. В рамках такой модели четыре полипептида с $M = 50\,000—55\,000$ образуют Cl^--ионный канал с M порядка 220 000. На выступающей во внеклеточное пространство его части находятся восемь мест связывания ГАМК и четыре места связывания БД. Вместе с тем предположение о локализации мест связывания БД и ГАМК на одном полипептиде вступает в противоречие со сведениями о существовании значительных различий между БД-рецепторными и ГАМК-рецепторными по онто- и филогенетическому развитию, региональному распределению и ответу на различные экспериментальные воздействия [3, 21, 22]. Исходя из этого можно сделать вывод о том, что только часть ГАМК$_А$-рецепторов связана с БДР. В отличие от остальных ГАМК$_А$-рецепторов они филогенетически достаточно молоды, обнаружены только у позвоночных и присутствуют исключительно на нейронах, т. е. являются мозгоспецифическими.

Альтернативная модель предполагает, что места связывания БД и ГАМК находятся на разных субъединицах. В этом случае ГАМК-БД-рецепторо-ионофорный ансамбль, содержащий как минимум четыре субъединицы ($M = 50\,000$), несущие по одному месту связывания БД, четыре субъединицы, имеющие по два места связывания ГАМК, будет иметь минимальную M, равную 400 000. Тогда макромолекулярная группировка с $M = 200\,000$ представляет собой продукт распада комплекса на симметричные фрагменты. В состав комплекса, вероятно, входят и субъединицы, не образующие симметричных структур, которые локализуются на внутренней стороне клеточной мембраны и выполняют регуляторные функции. На их существование указывают не только сообщения о выделении ГАМК-БД-рецепторного ансамбля с M, значительно превосходящей 200 000, но и многочисленные данные о присутствии в составе комплекса мест специфического связывания разнообразных экзо- и эндогенных соединений, свойства которых рассматриваются в следующем разделе.

2.3. Фармакология ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля

Наряду с $ГАМК_A$- и БД-рецепторами в составе ГАМК-ионофор-рецепторного ансамбля присутствуют также места связывания пикротоксина и барбитуратов (табл. 2.2). В ряде работ показано, что они, вероятно, не идентичны друг другу, хотя тесно связаны аллостерически [23]. Рецептор пикротоксина является мишенью действия таких конвульсантов, как 4-изопропил-1-фосфо[2,6,7]триоксобицикло[2,2,2]октан-1-оксида (IPTBO) и *трет*-бутилбициклофосфоротионата (TBPT), которые блокируют проводимость ГАМК зависимого Cl^--ионофора. Предполагают, что через место связывания барбитуратов также реализуют свой эффект такие седативные и анксиолитические агенты, как пиразолопиридины (этазолат, картазолат, тразазолат) [24]. Эта точка зрения подтверждается, в частности, тем, что суммарный эффект насыщающих концентраций барбитурата (например, пентабарбатала) и пиразолопиридина (например, этазолата) на специфическое связывание лиганда с ГАМК- или БД-рецепторами не превосходит максимально достижимого эффекта одного соединения [9]. Вместе с тем фармакологические свойства барбитуратов и пиразолопиридинов различаются: у последних преобладает анксиолитический эффект, а седативное действие выражено значительно слабее, чем у барбитуратов.

По данным электрофизиологических исследований, действие барбитуратов приводит к увеличению средней продолжительности пребывания активированного ГАМК Cl^--ионофора в открытом состоянии [25], т. е. барбитураты стабилизируют (делают более регидным) конформационное состояние ионофор-рецепторного комплекса, соответствующее открытому каналу. В свою очередь пикротоксин и конвульсанты, действующие через его рецептор, полностью блокируют проводимость Cl^--ионофора. Возможны два механизма такого действия. Если место связывания пикротоксина находится внутри Cl^--канала, связывание пикротоксина с рецептором может привести к механической закупорке канала, независимо от того, открыт он или закрыт. Альтернативный механизм предполагает, что пикротоксин стабилизирует ионофор-рецепторный комплекс в конформации, соответствующей закрытому каналу, т. е. действует противоположным барбитуратам образом. В случае, если место связывания пикротоксина находится внутри канала, в пространстве, через которое осуществляется транспорт анионов хлора, присутствие их в среде должно препятствовать доступу пикротоксина к рецептору и таким образом ингибировать специфическое связывание пикротоксина. Однако на самом деле анионы хлора не влияют на специфическое связывание пикротоксина и стимулируют специфическое связывание TBPT [26, 27]. Следовательно, конвульсанты действуют за счет стабилизации ионофор-рецепторного комплекса в закрытом состоянии.

Принципиально отличным от действия барбитурата и пикротоксина образом влияют на Cl^--проводимость бензодиазепины. Они

3 7–2934

вызывают увеличение частоты перехода ионофора из закрытого в открытое состояние, по-видимому, вследствие увеличения конформационной лабильности комплекса [25].

В составе ионофор-рецепторного комплекса присутствуют также места специфического связывания для авермектина B_{1A}. Этот макроциклический лактон связывается со своим рецептором необратимо (так же, как α-бунгаротоксин с Na^+/K^+-ионофор-АЦХ-рецепторным комплексом) и пикротоксин-зависимым образом облегчает активацию Cl^--канала под действием ГАМК [28]. Двухфазный характер зависимости эффекта от концентрации авермектина B_{1A}, в частности, его влияния на специфическое связывание ГАМК, говорит о том, что в состав комплекса входит, по-видимому, несколько мест связывания этого агента.

Стероид R5135 (амидин производное андростана), обладающий выраженным конвульсивным действием, является мощным антагонистом $ГАМК_A$-рецепторов, превосходящим по своей эффективности бикукуллин в 10 и более раз [29]. Его рецептор на ионофор-рецепторном комплексе находится в тесной аллостерической связи с ГАМК-рецептором и блокирует не только действие ГАМК на Cl^--ионофор, но и влияние ГАМК на связывание других лигандов с комплексом (см. табл. 2.2). Характер фармакологических и биохимических эффектов R5135 очень сходен (хотя не идентичен) с действием классического антагониста $ГАМК_A$-рецепторов — бикукуллина. Имеющиеся данные позволяют предположить, что бикукуллин ингибирует рецепторное связывание ГАМК в значительной степени неконкурентным образом и так же, как R5135, действует, возможно, через неидентичные места специфического связывания ГАМК, на свои собственные рецепторы [30].

Другой стероидный препарат — альфаксалон, используемый в качестве анестетика, как и R5135, является производным андростана, но обладает стимулирующим действием на специфическое связывание агониста ГАМК мусцимола [31]. Аналогичным, но более слабым эффектом обладает стероидный гормон андростерон. Стимулирующий эффект чувствителен к присутствию ионов Cl^- и снимается после обработки тритоном X-100. Фармакологически неактивный изомер альфаксалона не обладает подобным действием. Предположение о том, что альфаксалон и R5135 действуют через одно и то же место связывания, согласуется со сходством в их химической структуре, однако, в противоположность альфаксалону, эффект R 5135 не чувствителен к тритону X-100.

Существует также гетерогенная группа препаратов, способных влиять на ГАМК-БД-рецепторный ансамбль, по-видимому, через места специфического связывания ГАМК. К их числу можно отнести уридин, который эффективно ингибирует специфическое связывание ГАМК в концентрациях порядка 10 мкМ [32], ряд антагонистов гистаминовых H_2-рецепторов, таких как циметидин, метиамид, тиотидин, причем два первых препарата ингибируют связывание ГАМК в наномолярных концентрациях и стимулируют связывание бензодиазепинов в микромолярных, т. е. ведут себя как классические

ГАМК-агонисты [33]. Через ГАМК-БД-рецепторный ансамбль, вероятно, реализуют свой эффект конвульсанты из группы алкалоидов индолизидинов [34]. Представитель этой группы — секуринин — в микромолярных концентрациях ингибирует связывание ГАМК и блокирует стимулирующий эффект ГАМК на связывание БД, проявляя свойства антагониста ГАМК.

Свойства БД- и ГАМК-рецепторов, входящих в ионофор-рецепторный ансамбль, подробно описаны в обзорах [3, 9, 21, 22].

Наряду с рассмотренными выше местами связывания фармакологически активных эндо- и экзогенных соединений, в состав комплекса входит также центр связывания таких двухвалентных катионов, как никель, медь, кобальт, цинк, о чем свидетельствует их выраженное селективное действие на специфическое связывание БД [35]. Роль таких катионов в активности комплекса не выяснена, однако они могут участвовать в механизме транспорта ионов Cl^- по каналу.

На основании приведенных выше данных в составе ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля выявлено как минимум шесть неидентичных друг другу рецепторов: ГАМК$_A$, БДР, барбитуратный, место связывания авермектина B_{1A}, пикротоксиновый, место связывания R5135, а также центр связывания катионов. Представлены ли наряду с ГАМК$_A$- и БД-рецепторами и остальные перечисленные рецепторы на полипептиде с $M = 50\,000—55\,000$ или в составе макромолекулярной группировки с $M = 220\,000—250\,000$? О такой возможности говорят данные о их наличии в составе Cl^--ионофора, который, как было показано выше, может быть образован из одной или нескольких группировок с $M = 220\,000—250\,000$. Вместе с тем обработка мембран клеток мозга слабыми концентрациями неионного детергента тритона X-100 снимает модулирующие эффекты барбитуратов, пикротоксина и авермектина B_{1A} на связывание БД и ГАМК (см. табл. 2.2). Эти результаты позволяют предположить, что под действием детергента происходит удаление из комплекса (солюбилизация) субъединиц, связывающих пикротоксин, барбитураты и авермектин B_{1A}. К аналогичному выводу можно придти на основании того, что солюбилизированный дезоксихолатом и тритоном X-100 ГАМК-БД-рецепторный ансамбль с $M = 220\,000—250\,000$ не чувствителен к модулирующему действию этих агентов [8]. В то же время при использовании других условий солюбилизации и стабилизирующих буферов (например, детергента CHAPS) удается выделить ионофор-рецепторный комплекс, сохраняющий чувствительность к барбитуратам пикротоксину, авермектину B_{1A} и способный специфически связывать конвульсант TBPT [8, 9, 36]. Молекулярная масса данного комплекса соответствовала 220 000. Исходя из этого потерю чувствительности к барбитуратам и пикротоксину после обработки тритоном X-100 или солюбилизации можно интерпретировать как следствие достаточно сильной конформационной перестройки комплекса, приводящей к потере способности связывать эти лиганды. Если ионофор-рецепторный комплекс построен в виде цилиндра с внутренним гидрофильным каналом и внешними липофильными стенками, взаимодействующими с липид-

ной мембраной, то при солюбилизации, т. е. переходе в гидрофильную среду, энергетически выгодной перестройкой было бы его выворачивание наизнанку. При этом липофильные компоненты ушли бы внутрь, а гидрофильные выступили наружу. При солюбилизации детергентом CHAPS в стабилизирующем буфере, содержащем азолектин, также наблюдаются прогрессирующее во времени снижение чувствительности солюбилизированного комплекса к действию барбитуратов и пикротоксина и подавление связывания ТВРТ. Следует отметить, что при конформационной перестройке в процессе солюбилизации ионофор-рецепторного комплекса аффинность БДР, как правило, падает, а ГАМК-рецепторов — возрастает. После реконструкции солюбилизированного комплекса в липидную мембрану исходные (характерные для мембранного рецептора) аффинности восстанавливаются. В то же время, если при солюбилизации произошла потеря мест связывания барбитуратов и пикротоксина, последующая реконструкция комплекса в мембрану не приводит к их восстановлению.

Таким образом, пикротоксиновый и барбитуратный рецепторы, по-видимому, локализуются достаточно далеко от мест связывания БД и ГАМК, может быть, даже на другой субъединице.

2.4. Гетерогенность ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля

Электрофизиологические данные свидетельствуют о существовании нескольких, различающихся по проводимости популяций Cl^--каналов, связанных с $ГАМК_A$-рецепторами. Так, на нейронах лягушки удается выделить три типа каналов, причем количественно преобладающая субпопуляция отличается наименьшей проводимостью, а популяция, характеризующаяся наибольшей проводимостью, нечувствительна к действию пикротоксина и представлена наименьшим числом каналов [37].

Получены многочисленные данные о присутствии как минимум двух типов $ГАМК_A$-рецепторов, различающихся, в частности, по своей аффинности. Количественно преобладает низкоаффинный тип, так называемые $ГАМК_{A2}$-рецепторы. Согласно исследованию [3], именно $ГАМК_{A2}$-рецепторы образуют комплекс с БДР. В этом случае $ГАМК_{A1}$-рецепторы (более высокоаффинные) могут формировать Cl^--ионофор-$ГАМК_A$-рецепторный комплекс, нечувствительный к бензодиазепинам.

Получено много данных относительно гетерогенности мозгоспецифических БДР [3, 38]. Поддающиеся систематизации наблюдения свидетельствуют о существовании двух типов БДР, свойства которых суммированы в табл. 2.3. Однако этим гетерогенность мозгоспецифических БДР не ограничивается [38].

Таким образом, можно предположить, что существуют, как минимум, три типа ионофор-рецепторных ансамблей: 1) Cl^--ионофор-$ГАМК_{A1}$-рецепторный ансамбль, нечувствительный к действию БД, не солюбилизирующийся под действием детергентов или быстро

Таблица 2.3. **Сравнение двух типов мозгоспецифических бензодиазепиновых рецепторов**

Функция	Модуляция постсинаптических ГАМК$_{A2}$-рецепторов	
	БД$_1$-рецепторы	БД$_2$-рецепторы
Локализация в мозге:		
в мозжечке	Составляют более 90%	Не выявлены
в других отделах	Преобладают над БД$_2$-рецепторами	Представлены в хвостатом ядре, гиппокампе, септуме, переднем коленчатом теле
Аффинность:		
к бензодиазепинам	Одинакова	Одинакова
к триазолопиридазину CL 218 872 [18]	Высокая ($K_Д \approx 5$—20 нмоль)	Низкая ($K_Д \approx 200$—600 нмоль)
к этиловому и пропиловому эфирам карболин-3-карбоксиловой кислоты [42]	Высокая	Низкая
Молекулярная масса полипептида, фотоаффинно связывающего флюнитразепам [19]	51 000	53 000—55 000
Влияние агонистов ГАМК на связывание БД	Стимуляция	Стимуляция
Онтогенез [43]	Замедлен	Ускорен
Эффект хронического введения БД [44]	Не влияет	Понижение B_{max}
Чувствительность к стимуляции пентобарбиталом [45]	Повышена	Понижена
Чувствительность к защитному действию ГАМК при термоинактивации [46]	Понижена	Повышена
Чувствительность к SH-реагентам [47]	»	»

теряющий активность в солюбилизированном виде; 2) ГАМК$_{A2}$-БД$_1$-рецепторно-ионофорный ансамбль, в наиболее чистом виде представленный в мозжечке; 3) ГАМК$_{A2}$-БД$_2$-рецепторно-ионофорный ансамбль, отличающийся относительно большими молекулярными массами. Соответствуют ли эти ионофор-рецепторные ансамбли различным типам Cl^--каналов — покажут дальнейшие исследования.

2.5. Общие свойства ГАМК-зависимого и глицин-зависимого Cl^--ионофоров

Глициновый рецептор регулирует, как и ГАМК-рецептор, работу Cl^--ионофора и у млекопитающих представлен в основном в спинном мозге. Электрофизиологические свойства глицин-зависимого Cl^--ионофора отличаются от таковых ГАМК-зависимого Cl^--ионо-

фора [39]. Вместе с тем в структуре обоих ионофор-рецепторных комплексов существует глубокое сходство, свидетельствующее об их эволюционном родстве. Это, прежде всего, присутствие на Cl^--ионофор-глицин-рецепторном комплексе мест связывания для авермектина B_{1A} и R 5135, так же как на $ГАМК_А$-БД-рецепторно-ионофорном ансамбле [40, 41]. Оба агента являются мощными ингибиторами специфического связывания стрихнина — наиболее специфичного

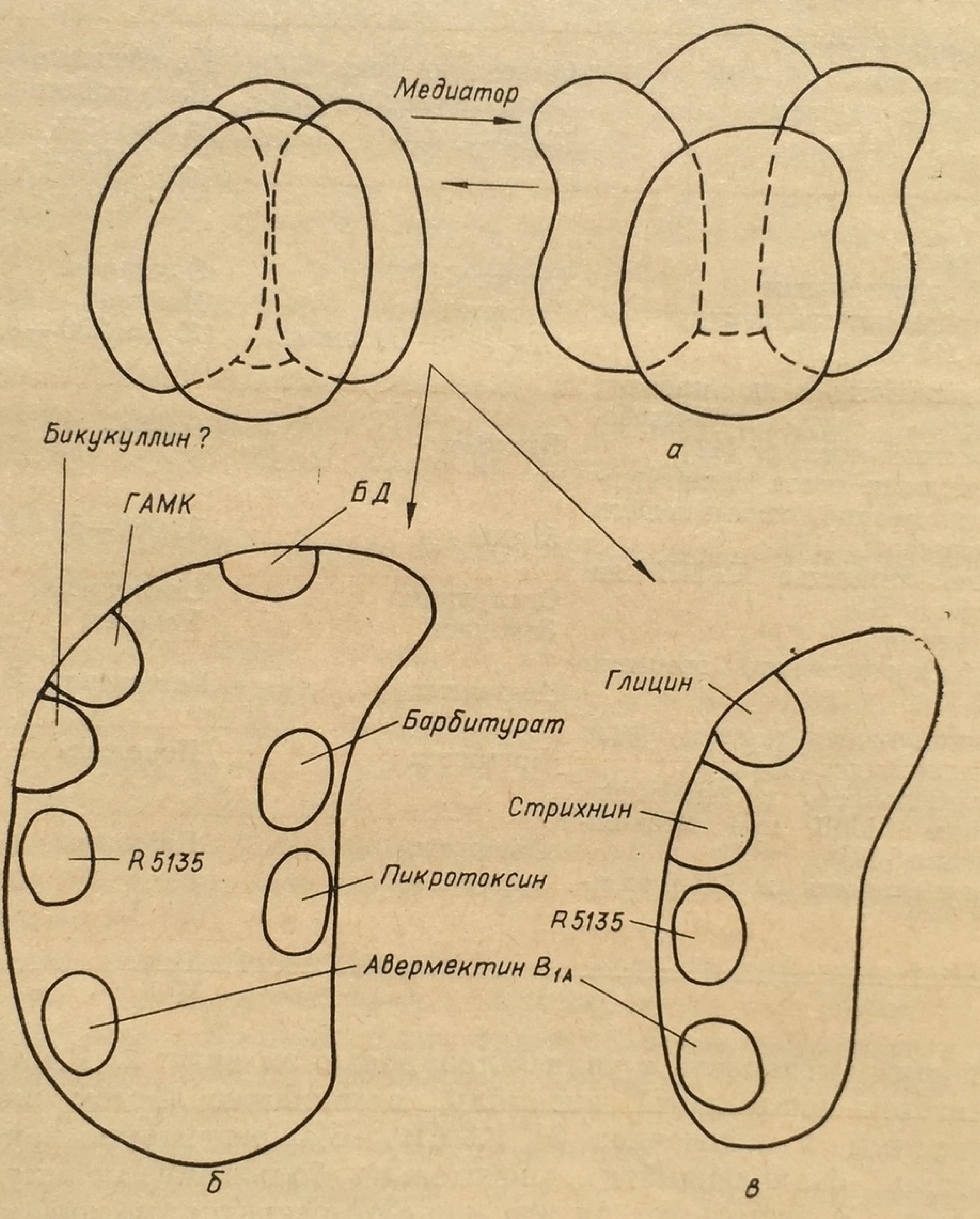


Рис. 2.1. ГАМК-БД-рецепторно-ионофорный ансамбль:

а — квартетная модель ионного канала; *б* — субъединица ансамбля; *в* — субъединица Cl^--ионофор-глицин-рецепторного комплекса. (Место специфического связывания бикукуллина предполагается неидентичным месту специфического связывания ГАМК)

антагониста глицина. Исходя из этих данных можно предположить, что участок Cl^--ионофора, на котором расположены места связывания авермектина B_{1A} и R5135, наиболее эволюционно стабильный. Он является, по-видимому, липофильным и обращен в сторону липидной мембраны, поскольку известно, что у мембранных белков наиболь-

шей эволюционной стабильностью отличаются именно липофильные фрагменты. Другая, не менее важная группа данных, говорящих о эволюционной близости ГАМК- и глицин-зависимых Cl^--ионофоров, связана с перекрестной активностью таких соединений, как бикукуллин и стрихнин. Показано, что классический антагонист ГАМК$_A$-рецепторов — бикукуллин способен ингибировать глициновый рецептор, но его эффективные концентрации в этом случае в 100 раз выше, чем для ГАМК$_A$-рецептора [29]. То же самое имеет место для стрихнина, который ингибирует рецепторное связывание ГАМК в значительно более высоких концентрациях, чем связывание глицина [29]. Исходя из этого можно предположить, что участки ионофор-рецепторных комплексов, на которых находятся места связывания бикукуллина или стрихнина, характеризуются меньшей, чем участки, содержащие места связывания авермектина B_{1A} и R5135, однако все же довольно высокой эволюционной стабильностью. На рис. 2.1 показаны модели строения ГАМК$_A$- и глицин-зависимых Cl^--ионофоров, суммирующие данные как по эволюционной стабильности, так и по предполагаемой липо- или гидрофильности соответствующих мест связывания. Модели являются упрощенными и исходят из того, что ионофор состоит из четырех идентичных, расположенных по длине канала и образующих его стенки структур. Каждая из них содержит весь набор рассмотренных выше рецепторов.

Таким образом, можно предположить, что ряд мембранных ионных каналов и (или) ионофор-рецепторных комплексов (ансамблей) обладает набором общих черт в структуре и, возможно, механизмах действия. К исходным морфологическим свойствам можно отнести следующие:

1. Ионный канал образован молекулярной группировкой с $M = 220\,000-250\,000$.

2. В структуре этой группировки присутствуют четыре полипептида с $M = 30\,000-50\,000$, которые пронизывают мембрану и непосредственно образуют стенки канала (возможно, стенки его наружной части или ворота).

3. Если канал сопряжен с рецептором для медиатора, места специфического связывания медиатора находятся на каждом из четырех полипептидов, причем локализуются на выступающем с наружной стороны мембраны участке.

Изучение сходства в строении мембранных каналов ионной проницаемости представляет большой интерес с общебиологической точки зрения как подход к раскрытию путей эволюции механизмов мембранного транспорта. Не менее актуально это направление и в области молекулярной фармакологии, где оно открывает возможности для целенаправленного поиска новых лекарственных агентов и выявления неизвестных ранее механизмов действия традиционных препаратов.

1. *Глебов Р. Н., Крыжановский Г. Н.* Функциональная биохимия синапсов.— М. : Медицина, 1978.— С. 196—219.
2. *Potter L. T.* Receptors for acetylcholine as a component of ion channels // // Hormone receptor interactions / Ed. E. S. Levey.— New York, 1978.— p. 367.
3. *Корнеев А. Я., Лидеман Р. Р.* Бензодиазепиновые рецепторы и постсинаптические ГАМК-рецепторы: свойства и взаимодействие // Успехи соврем. биологии.— 1985.— **100**, № 1.— С. 51—67.
4. *Young A. B., Snider S. H.* Strychnin binding in rat spinal cord associated with the synaptic glycine receptor: cooperativity of glycine interactions // Mol. Pharmacol.— 1974.— **10**, N 4.— P. 790—809.
5. *Molecular* properties of the slow inward calcium channel / J. C. Venter, C. M. Fraser, J. S. Schaber et al.// J. of Biol. Chem.— 1983.— 258, N 19.— P. 9344—9350.
6. *Saxitoin* binding to synaptosimes membranes and solubilized binding sites from rat brain / B. K. Kruger, R. W. Radzlaff, G. R. Stritchartz, M. P. Blaustein // J. Membrane Biol.— 1979.— **50**, N 2.— P. 287—310.
7. *Molecular* properties of the apamin-binding component of Ca^{++} dependent K^{+} channel / H. Scmid-Antomarchi, M. Hugnes, R. Norman et al.// Eur. J. Biochem.— 1984.— **14**, N 1.— P. 1—6.
8. *The purified* GABA-benzodiazepine receptor complex: retention of the multiple functions / E. A. Barnard, F. A. Stephenson, E. Sigel et al.// Neuropharmacology.— 1984.— 23, N 3.— P. 813—815.
9. *Olsen R. W.* GABA-benzodiazepine-barbiturate receptor interaction // J. Neurochem.— 1981.— **37**, N 1.— P. 1—13.
10. *Asano T., Ogasavara N.* Soluble GABA and benzodiazepine receptors from rat cerebral cortex // Life Sci.— 1981.— **29**, N 1.— P. 193—200.
11. *Korneyev A. Ya., Belonogoff O. B., Lideman R. R.* Single class of muscimol binding sites in the solubilized GABA-benzodiazepine receptor complex // Neurosci.— 1984.— **13**, N 5.— P. 1347—1352.
12. *Karobath M., Supavilai P.* Distinction of benzodiazepine agonists from antagonists by photoaffinity labelling of benzodiazepine receptor in vitro // Neurosci. Lett.— 1982.— **31**, N 1.— P. 65—69.
13. *Mohler H., Battersby M. K., Richards J. C.* Benzodiazepine receptor protein identified and visualized in brain tissue by a photoaffinity label // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1980.— **77**, N 3.— P. 1666—1670.
14. *Sigel E., Stephenson A., Mamalaki C., Barnard E. A.* A GABA-diazepine receptor complex of bovine cerebral cortex // J. of Biol. Chem.— 1983.— 258, N 14.— P. 6965—6971.
15. *Double A., Iversen L. L.* Molecular size of benzodiazepine receptor in rat brain in situ: evidence for a functional dimer // Nature.— 1982.— **295**, N 5848.— P. 522—523.
16. *Korneyev A. Ya., Factor M. I.* Change in B_{max} and K_d for (^{3}H) flunitrazepam observed in the course of washing rat brain tissue with distilled water // Mol. Pharmacol.— 1983.— **23**, N 3.— P. 310—314.
17. *An allosteric* model for benzodiazepine receptor function / F. J. Ehlert, W. R. Roeske, K. W. Gee, H. I. Yamamura // Biochem. Pharmacol.— 1983.— **32**, N 14— P. 2375—2383.
18. *Sigel E., Mamalaki C., Barnard E. A.* Reconstitution of the purified GABA-benzodiazepine receptor complex from bovine cerebral cortex into phospholipid vesicles // Neurosci. Lett.— 1985.— **61**, N 1.— P. 165—170.
19. *Sieghart W., Karobath M.* Molecular heterogeneity of benzodiazepine receptors// Nature.— 1980.— **286**, N 5770.— P. 285—287.
20. *Asano T., Sakakibara J., Ogasavara N.* Molecular sizes of photolabelled GABA and benzodiazepine receptor proteins are identical // FEBS Lett.— 1983.— **151**, N 2.— P. 277—280.
21. *Enna S. J., Gallager J. P.* Biochemical and electrophysiological characteristics of mammalian GABA-receptors // Int. Rev. Neurobiol.— 1983.— **24**, N 2.— P. 181—212.

22. *Mohler H., Richards J. C.* Benzodiazepine receptor // Neuropharmacol.— 1984.— **23**, N 2.— P. 233—242.
23. *Trifiletti R. R., Snowman A. M., Snyder S. H.* Barbiturate recognition site on the GABA-benzodiazepine receptor complex is distinct from the picrotoxin / TPBT recognition site // Eur. J. Pharmacol.— 1985.— **106**, N 4.— P. 441—447.
24. *Leeb-Lunberg F., Snowman A., Olsen R. W.* Interaction of anticonvulsants with barbiturate-benzodiazepine — GABA receptor complex // Ibid.— 1981.— **72**, N 1.— P. 125—129.
25. *Study R. E., Barker J. L.* Diazepam and (—) pentobarbital: functional analysis reveals different mechanisms for potentiation of GABA responses in cultured central neurons // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1981.— **78**, N 11.— P. 7180—7184.
26. *Drexler C., Sieghart W.* (^{35}S) TBPT and Avermectin B_{1A} bind to different sites with the GABA-benzodiazepine receptor complex // Neurosci. Lett.— 1984.— **50**, N 2.— P. 273—277.
27. *Ticku M. K., Ban M., Olsen R. W.* Binding of (^{3}H) dihydropicrotoxinin, a GABA synaptic antagonist to rat brain membrane // Mol. Pharmacol.— 1978.— **14**, N 2.— P. 391—402.
28. *Drexler C., Sieghart W.* Properties of a high affinity binding site for (^{3}H) Avermictin B_{12} // Eur. J. Pharmacol.— 1984.— **99**, N 2.— P. 269—277.
29. *Olsen R. W.* GABA receptor binding antagonism by the amidine steroid Ru 5135 // Ibid.— **103**, N 2.— P. 333—337.
30. *Olsen R. W., Snowman A. M.* (^{3}H) bicuculin methochloride binding to low affinity GABA receptor site // J. Neurochem.— 1983.— **41**, N 5.— P. 1653—1660.
31. *Simmonds M. A., Turner J. P., Harrison N. L.* Interaction of steroids with GABA-A receptor complex // Neuropharmacology.— 1984.— **23**, N 7B.— P. 877—878.
32. *Interaction* of uridin with GABA binding sites in cerebellar membranes of the Rat / P. Guarneri, R. Guarneri, C. Mocciaro // Neurochem. Res.— 1983.— **8**, N 12.— P. 1537—1580.
33. *Lakoski J. M., Aghajinian G. K., Gallager D. W.* Interaction of histidine H-2 receptor antagonists with GABA and benzodiazepine binding sites in the CNS // Eur. J. Pharmacol.— 1983.— **88**, N 2.— P. 241—245.
34. *Securinin* alcaloids, a new class of GABA receptor antagonists / J. A. Bentle, E. W. Karbon, A. N. Brulaker et al. // Brain Res.— 1985.— **330**, N 1.— P. 135—140.
35. *Mackerer C. R., Kochman R. L.* Effect of cations and anions on the binding of the (^{3}H) diazepam to rat brain // Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.— 1978.— **158**, N 3.— P. 393—397.
36. *Pong S., Rehaven R., Wan C. C.* Stimulation of the benzodiazepine binding to rat brain membranes and solubilized receptor complex by Avermectin B_{1A} and GABA // Biochim. et Biophys. Acta.— 1981.— **646**, N 1.— P. 143—150.
37. *Yasui S., Ishizuka S., Akaike N.* GABA Activates different types of chloride-conducting receptor-ionophore complexes in a dose dependent manner // Brain Res.— 1985.— **344**, N 1.— P. 176—180.
38. *Squires R. F.* Benzodiazepine receptor multiplicity // Neuropharmacology.— 1983.— **22**, N 12B.— P. 1443—1450.
39. *Gold M. R., Martin A. R.* GABA and glycine activated Cl-channels having different characteristics in CNS neurones // Nature.— 1984.— **308**, N 5960.— P. 639—641.
40. *Graham D., Pfeiffer F., Betz H.* Avermectin B_{1A} inhibits the binding of strychnine to the glycine receptor of rat spinal cord // Neurosci. Lett. — 1982.— **29**, N 2.— P. 173—176.
41. *Hunt P., Clement-Jewery S.* A steroid derivative R 5135 antagonizes the GABA-benzodiazepine receptor interaction // Neuropharmacology.— 1981.— **20**, N 4.— P. 357—361.
42. *Mitchell R., Wilson L.* Investigation of the effects of muscimol on different

component of (^{3}H) propyl-β-carboline-3-carboxilate binding to rat hippocampal and cerebellar membranes // Eur. J. Pharmacol.— 1984.— **97**, N 3/4.— P. 315—319.
43. *Differential* ontogeneity of type 1 and type 2 benzodiazepine receptors / A. S. Lippa, B. Beer, M. C. Sano et al. // Life Sci.— 1981.— **28**, N 21.— P. 2343—2347.
44. *Rosenberg H. C., Chiu T. H.* Regional specificity of benzodiazepine receptor down regulation during chronic treatment of rat with flunitrazepam // Neurosci. Lett.— 1981.— **24**, N 1.— P. 49—52.
45. *Niehoff D. L., Mashal R. D., Kuhar M. J.* Benzodiazepine receptor: preferential stimulation of type 1 receptor by pentobarbital // Eur. J. Pharmacol.— 1983.— **92**, N 1.— P. 131—134.
46. *Preferential* protection of cortical type 2 benzodiazepine receptor by GABA during heat inactivation / M. A. Abel, A. S. Lippa, D. I. Benson et al. // Drug Develop. Res.— 1984.— **4**.— P. 23—30.
47. *Korneyev A. Ya., Belonogoff O. B., Zuzin B. N.* Differences in the properties of bovine brain benzodiazepine receptors in the cerebellum and hippocampus revealed after reduction of disulphide bonds // Neurosci. Lett.— 1985. — **61**, N 2.— P. 279—284.

Глава 3

СВЯЗЬ МЕЖДУ СТРОЕНИЕМ, ТРОПНОСТЬЮ К РЕЦЕПТОРУ И АКТИВНОСТЬЮ 1,4-БЕНЗДИАЗЕПИНОВ И РОДСТВЕННЫХ СИСТЕМ

Установление связи между структурой, аффинностью к бензодиазепиновым рецепторам (БДР) и фармакологической активностью БД и других соединений, способных взаимодействовать с БДР,— важная задача как в плане изучения механизма действия этих веществ, выявления структурных особенностей БДР, так и прогнозирования структуры и свойств новых препаратов, механизм действия которых связан с взаимодействием с рецепторно-ионофорным ансамблем. Эти вопросы решались нами при комплексном изучении структуры, физико-химических, фармакологических свойств и тропности к рецептору производных бенздиазепинов и некоторых родственных систем.

3.1. 5-Замещенные-1,2-дигидро-3Н-1, 4-бенздиазепин-2-оны

Наличие и характер заместителя в 5-м положении 1,4-бенздиазепинов имеют принципиальное значение в определении сродства к БДР и фармакологического спектра соединений данного класса.

Если рассмотреть ряд БД, представленных в табл. 3.1, то легко заметить, что природа заместителя в 5-м положении гетерокольца играет существенную роль при взаимодействии этих соединений (I—X) с БДР. Незамещенный в 5-м положении (I) и 5-метил-(II)-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-оны не ингибируют специфическое связывание ^{3}Н-диазепама с БДР и как транквилизаторы фармакологически неактивны.

Аффинность к БДР и необходимый спектр фармакологической активности появляются тогда, когда в 5-м положении находится заместитель ароматической природы: фенильное (соединения IV, V, VII, IX, X) или гетероциклическое ароматическое кольцо (соединения

Таблица 3.1. **Аффинность к БДР и психофармакологические свойства 5-замещенных-1,2-дигидро-3Н-1,4-бендиазепин-2-онов**

Соединение	R_1	R^2	K_i, нмоль	Эффективные дозы, мг/кг: Антагонизм с коразолом	Эффективные дозы, мг/кг: Потенцирование гексеналового сна	Эффективные дозы, мг/кг: Нарушение ориентировочных рефлексов
I	H	H	—	—	—	—
II	H	CH^3	—	—	—	5,0
III	NO_2	CH_3	15 200	80	—	—
IV	NO_2	Ph	12,5±0,6	0,27 (0,15—0,48)	0,09 (0,06—0,12)	1,5 (1,15—1,95)
V	H	Ph	111,0±13,3	0,42 (1,16—1,05)	1,55 (0,86—2,08)	8,0 (5,5—11,6)
VI	H	N, N–CH_3	693,0±15,0	8,8	—	8,8
VII	Br	Ph	3,5±0,2	0,11 (0,05—0,24)	0,10 (0,06—0,15)	4,5 (3,9—5,0)
VIII	Br	N	18,0±0,6	0,2	0,7	—
IX	Br	Cl	2,1±0,1	0,037 (0,05—0,24)	0,09 (0,03—0,31)	1,05 (0,40—3,70)
X	Cl	Ph	5,9±0,3	0,35 (0,23—0,53)	0,9 (0,57—1,41)	3,7 (2,46—5,5)

Таблица 3.2. **Свойства 7-бром-5-галогенофенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-**

Соединение	Растворимость в воде, мкМ	lg *P*	ε, л/моль, при λ_{max}, нм: 317	ε, л/моль, при λ_{max}, нм: 230	K_i, нмоль
VII	0,97	3,11	2500	39 800	3,5±0,2
IX	2,49	3,30	1090	36 130	2,1±0,1
XI	1,29	3,30	2000	38 500	2,5±0,2
XII	0,60	3,63	2140	35 360	53,0±5,20
XIII	0,66	3,88	2080	38 590	59,0±3,3
XIV	0,35	3,78	2800	40 000	7400,0±220
XV	0,63	4,08	2550	38 150	5320,0±180
XVI	--	3,12	—	—	3,3±0,11

VI, VIII). Исключение составляет 7-нитро-5-метил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-он (III). Значительное увеличение объема заместителя в 5-м положении (соединение VI) не изменяет общей картины, хотя тропность к рецептору уменьшается, а эффективные дозы по указанным тестам увеличиваются.

Сопоставление величин $\lg K_i$ и $ЭД_{50}$ исследованных соединений позволило установить хорошую корреляционную зависимость по тесту антагонизма с коразолом ($r = 0,95$) (рис. 3.1) и удовлетворительную зависимость по тесту потенцирования гексеналового сна ($r = 0,81$). Корреляция между величинами K_i и $ЭД_{50}$ по тесту антагонизма с коразолом описывается уравнением

$$\lg\left(\frac{1}{ЭД_{50}}\right) = -0,76 \lg K_i + 1,39$$

$$(n = 7,\ \hat{t} = 6,80). \qquad (3.1)$$

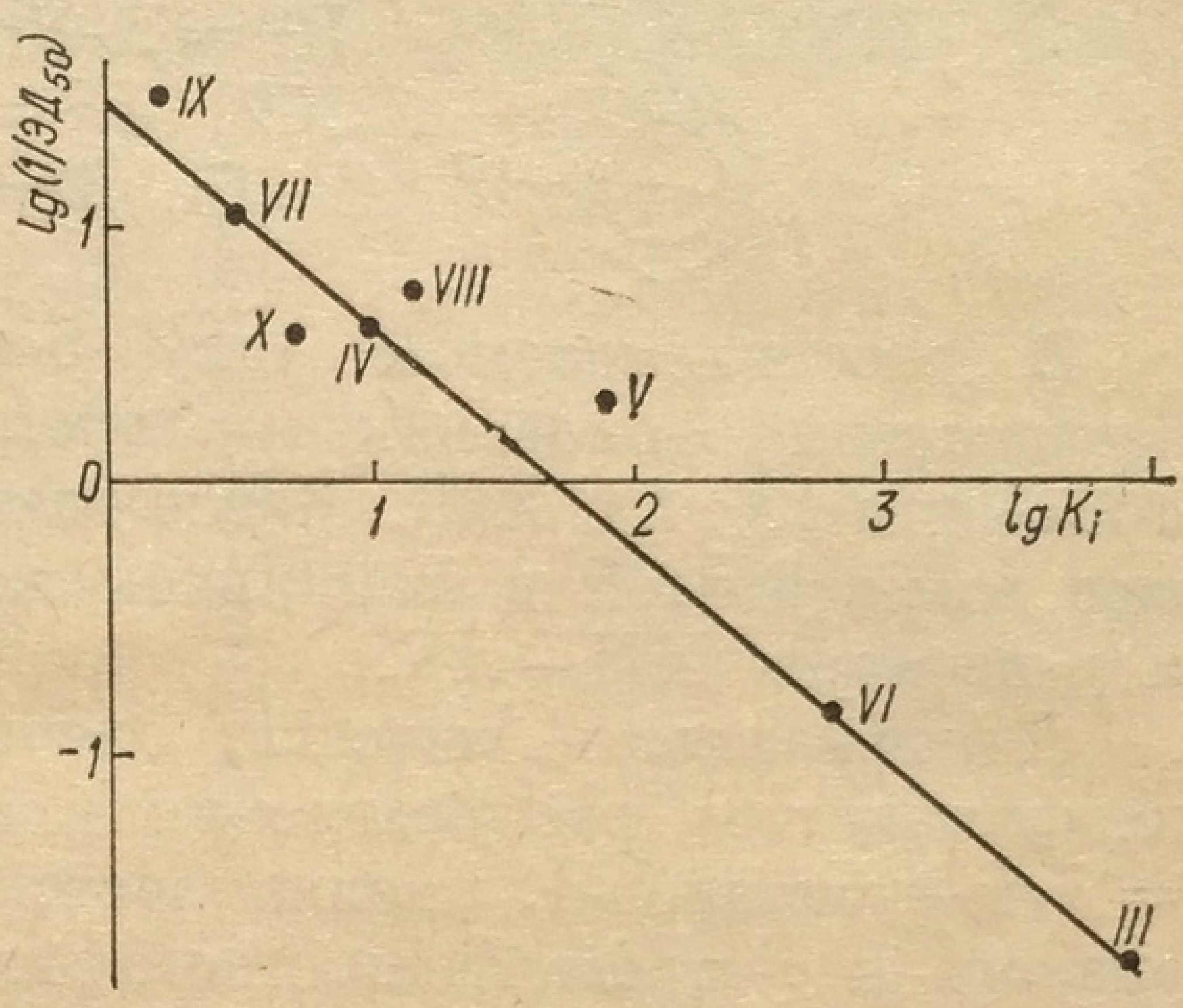


Рис. 3.1. Зависимость между противосудорожной активностью и аффинностью к БДР ряда 5-замещенных-1,4-бенздиазепин-2-онов

5-Арил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-оны. Среди 5-замещенных-1,4-бенздиазепин-2-онов заслуживают особого внимания 5-фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-оны, поскольку большинство применяемых в медицинской практике препаратов относится именно к этому ряду соединений [1, 2, 4].

Один из наиболее интересных фактов, установленных при изучении связи между структурой и психофармакологическими свойствами 1,4-бенздиазепин-2-онов, связан с влиянием структурной изомерии на активность в ряду 5-галогенфенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов. При переходе от *о*- к *м*- и *п*-изомерам активность по тесту антагонизма с коразолом уменьшается на 4 порядка [3].

бенздиазепин-2-онов

Фармакологическая активность ($ЭД_{50}$, мг/кг) в опытах на мышах				
Антагонизм с коразолом	Потенцирование гексеналового сна	Нарушение ориентировочных рефлексов	Максимальный электрошок	Нарушение координации движений
0,11	0,1	4,5	17	4,6
0,037	0,062	1,05	10,2	2,1
0,05	0,2	5,4	6,0	7,5
7,5	4,5	—	60,0	23,0
12,1	6,0	10,0	—	20,0
12,8	4,7	10,0	50,0	6,8
26,0	30,0	19,0	20,0	30,0
0,074	0,05	4,7	—	—

Указанное изменение еще более выражено для фторпроизводных [4]. Поэтому представлялось интересным изучить связь между физико-химическими свойствами, аффинностью к БДР и фармакологической активностью соединений VIII, IX, XI—XVI (табл. 3.2):

VIII. $R^1 = Br$; $R^2 = H$; IX. $R^1 = Br$; $R^2 = o\text{-}Cl$; XI. $R^1 = Br$; $R^2 = o\text{-}Br$; XII. $R^1 = Br$; $R^2 = м\text{-}Cl$; XIII. $R^1 = Br$; $R^2 = м\text{-}Br$; XIV. $R^1 = Br$; $R^2 = n\text{-}Cl$; XV. $R^1 = Br$, $R^2 = n\text{-}Br$; XVI. $R^1 = Cl$, $R^2 = o\text{-}Cl$.

В рассматриваемом ряду 5-галогенофенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов максимальной растворимостью в воде обладают *о*-изомеры IX, XI, XVI. Менее растворимо соединение VIII, не имеющее заместителей в фенильном кольце, еще менее растворимы *м*- и *n*-изомеры XII—XV.

Липофильность веществ, оцениваемая величинами логарифмов коэффициентов распределения в системе фосфатный буфер (pH = 7,4)— октанол-1, увеличивается при переходе от незамещенного аналога к *о*-галогенфенилпроизводным и далее к *м*- и *n*-изомерам. Сопоставление величин K_i и $\lg P$ позволило выявить удовлетворительную корреляционную зависимость, которая описывается уравнением

$$K_i = 3{,}62 \lg P = 11{,}29 \quad (r = 0{,}87;\ n = 7;\ \hat{t} = 3{,}95). \qquad (3.2)$$

Коэффициенты молярной экстинкции длинноволнового максимума поглощения в электронных спектрах веществ VII, IX, XI—XVI, характеризующие хромофорную систему — азометиновую связь, сопряженную с ароматическим фрагментом бенздиазепинов [5], возрастают при переходе от *о*- к *м*- и *n*- изомерам [6]. Связь между величинами $\lg K_i$ и $\lg \varepsilon$ при $\lambda_{max} = 313$ нм удовлетворительно описывается корреляционным уравнением

$$\lg K_i = 8{,}95 \lg \varepsilon - 27{,}78 \quad (r = 0{,}82;\ \hat{t} = \text{[illegible]},20,\ n = 7). \qquad (3.3)$$

Для коротковолнового максимума, отвечающего $\pi \rightarrow \pi^*$ переходам ароматических колец, какие-либо закономерности в изменении величин ε не наблюдаются.

В результате сопоставления величин K_i и $ЭД_{50}$ между ними выявлены отчетливые корреляционные соотношения по тестам: антагонизма с коразолом ($r = 0{,}90$), потенцирования гексеналового сна ($r = 0{,}89$) и нарушения ориентировочных рефлексов ($r = 0{,}82$), которые описываются выражениями

$$\lg \frac{1}{ЭД_{50}} = -0{,}73 \lg K_i + 1{,}17 \quad (n = 7;\ \hat{t} = 4{,}62); \qquad (3.4)$$

$$\lg \frac{1}{ЭД_{50}} = -0{,}60 \lg K_i + 0{,}96 \quad (n = 7;\ \hat{t} = 4{,}36); \qquad (3.5)$$

$$\lg \frac{1}{ЭД_{50}} = 0{,}18 \lg K_i = 0{,}49 \quad (n = 6;\ \hat{t} = 2{,}86). \qquad (3.6)$$

При сопоставлении величин K_i и $ЭД_{50}$ по тестам максимального электрошока и нарушения координации движений значимых ($r \geqslant 0{,}80$) корреляционных зависимостей не найдено [6]. Хорошая корреляционная зависимость между величинами K_i и $ЭД_{50}$ подтверждает тот факт, что взаимодействие БД-анксиолитиков с БДР — главное звено в наблюдаемом фармакологическом эффекте по рассмотренным тестам.

В процессе структурно-функционального исследования особое внимание следует обращать на количество изучаемых объектов. Чем больше рассматривается объектов, тем выше статистическая надежность и достоверность полученных результатов. Но при увеличении числа объектов в исследуемый ряд приходится вводить все больше соединений, структура которых изменяется более чем по одному признаку или происходит значительное изменение последнего, например, *о*-, *м*-, *п*-изомерия в фенильном кольце. Исключение из анализируемого ряда *п*-изомеров (соединения XIV и XV) приводит к увеличению коэффициентов корреляции между противосудорожной активностью и тропностью к БДР:

$$\lg \frac{1}{ЭД_{50}} = -1{,}77 \lg K_i + 2{,}04$$

$$(r = 0{,}97;\ \hat{t} = 0{,}91;\ n = 5). \qquad (3.7)$$

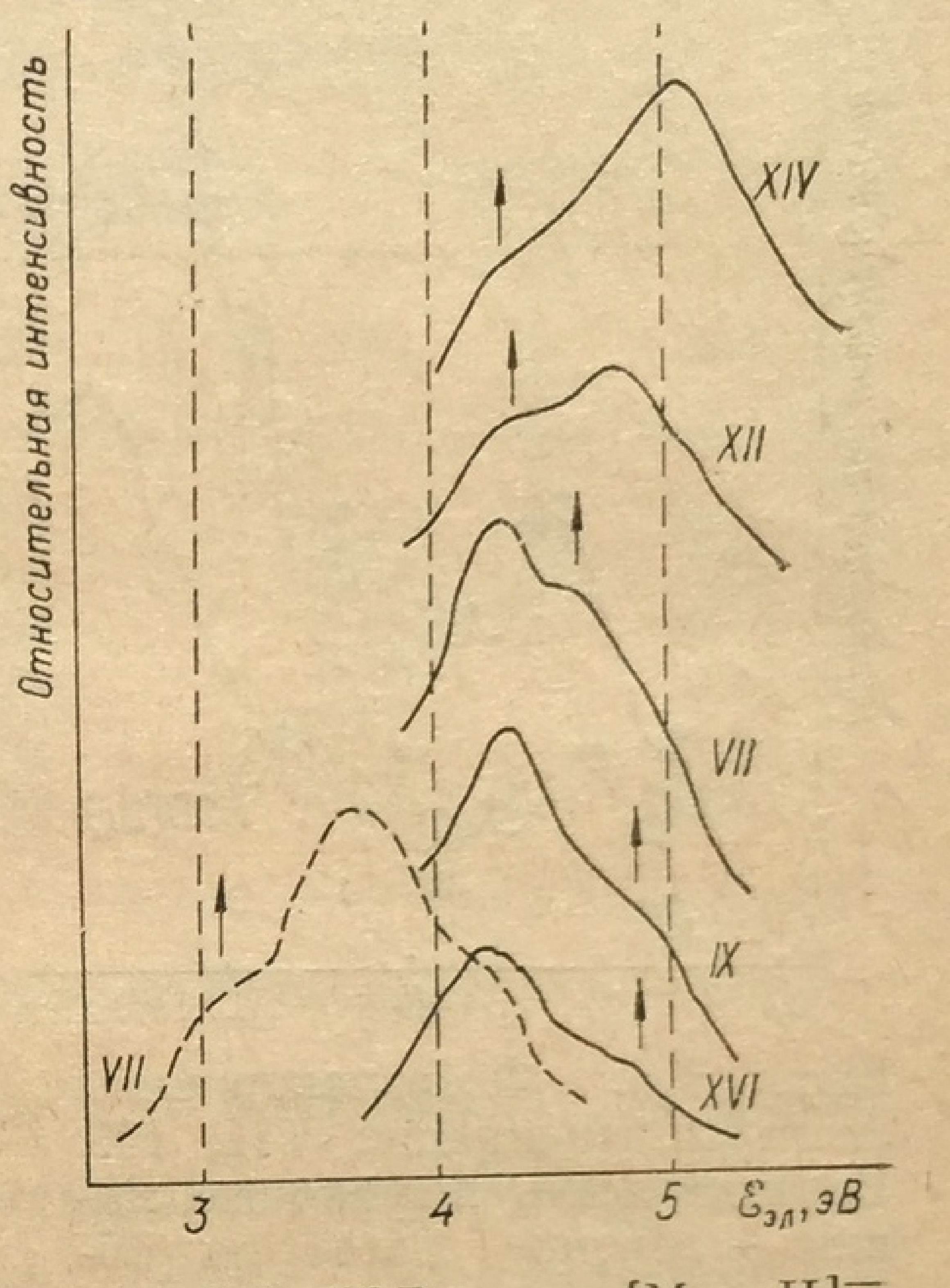


Рис. 3.2. КЭВ ионов $[M - H]^-$ (сплошные кривые) и $[Br]^-$ (штриховые). Стрелками показано возрастание относительных интенсивностей пиков при повышении T в диапазоне 160—220 °C

Отсутствие хороших ($r \geqslant 0{,}90$) корреляционных зависимостей между величинами K_i и рассмотренными физико-химическими свойствами послужило основанием для изучения новых свойств 1,4-бенздиазепин-2-онов, изменение которых было бы более тесно связано с изменением аффиннитета к БДР.

С этой целью были изучены фотоэлектронные спектры (ФЭС) и масс-спектры отрицательных ионов (ОИ) ряда 5-галогенофенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бендиазепин-2-онов (VII, IX, XII, XIV, XVI).

Масс-спектры ОИ БД [7] формируются под действием медленных электронов, в результате резонансного захвата которых происходит возбуждение электронов молекулы с нескольких занятых орбиталей (ЗМО) на вакантную молекулярную орбиталь (ВМО) с образованием отрицательных молекулярных ионов ОМИ, распадающихся с образованием фрагментарных ОИ, которые регистрируются как функция от энергии ионизирующих электронов ($E_{эл}$) в виде кривых эффективного выхода (КЭВ) (рис. 3.2).

Сложная форма КЭВ означает, что ИО образуются по нескольким конкурирующим между собой каналам распада из ОМИ разных резонансных состояний. Исследование температурной зависимости КЭВ

в диапазоне 150—250 °С позволило предположить, что в исследуемом образце молекулы находятся в двух равновесных, энергетически неравноценных состояниях, количественно соотношение между которыми зависит от температуры. Например, пики ионов М — Н]⁻ в диапазонах $E_{эл}$ 4,0—4,5 и 4,5—5,5 эВ следует отнести к этим различным состояниям ОМИ, а экстраполяция зависимости КЭВ М — Н]⁻ от температуры в область низких температур показывает, что при комнатной температуре у молекул соединений VII, IX, XVI энергетически выгодным является первое состояние М — Н]⁻, а для молекул соединений XII, XIV — второе. Аналогичный эффект установлен при изучении и интерпретации ФЭС соединений XVII, IX, XII, XIV, XVI.

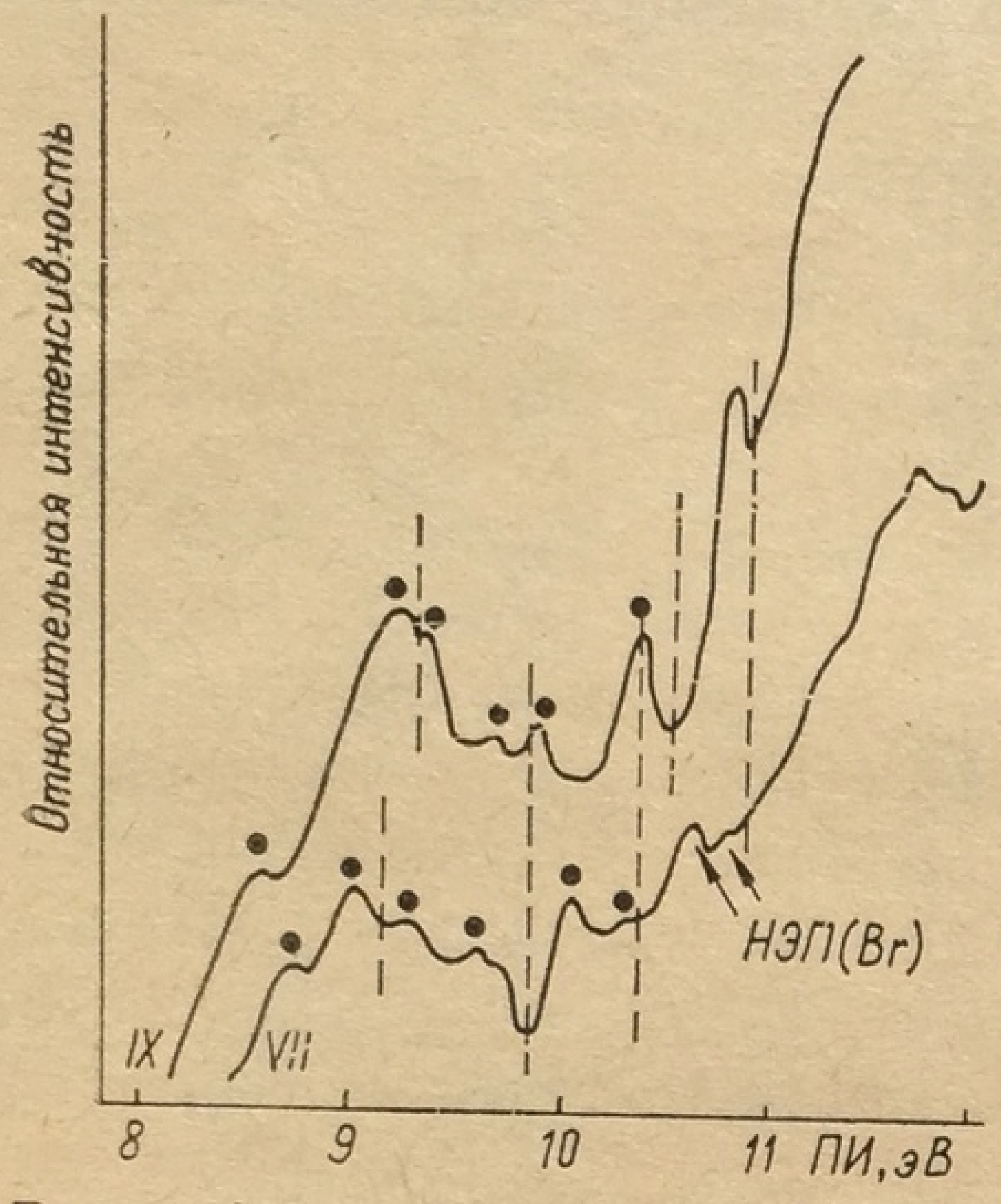


Рис. 3.3. Фотоэлектронные спектры соединений VII, IX. Вертикальные штриховые линии — деление полос на области с равными интенсивностями. Точками отмечены шесть ПИ, соответствующих трем ЗМО

ФЭ спектры БД начинаются с широкой полосы в области потенциала ионизации (ПИ) 8,5—10,5 эВ, состоящей из нескольких плохо разрешенных максимумов, в которой можно выделить шесть пиков. В области ПИ = 10,5—12 эВ имеются полосы, по форме и значениям ПИ характерные для неподеленных электронных пар НЭП атомов галогенов [7]. Из-за низкой симметрии молекулы 1,4-бенздиазепин-2-онов и в результате взаимодействия с другими МО в ФЭС НЭП атома брома проявляется в виде дублета (ПИ = 10,62 эВ и ПИ = 10,67 эВ).

Таким образом, можно определить, что в ФЭС соединений VII, IX, XII, XIV, XVI в области ПИ 8,5—10,5 эВ имеются переходы, соответствующие трем ЗМО (по два пика на каждой, рис. 3.3).

В литературе описана инверсия гетероциклического кольца молекул 1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов, в результате которой реализуются две эквивалентные конформации псевдованны (А и Б) с *Z* (*цис*)-конфигурацией амидной группы [8—11].

А Б В

В ряде работ [12, 13] для 1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов, кроме конформации псевдованны, обнаруживается существова-

ние энергетически неравноценной конформации псевдокресла (В) с E (*транс*)-конфигурацией амидной группы. Если предположить, что в процессе инверсии гетерокольца реализуются как эквивалентные (А и Б), так и неэквивалентные (В) конформации, то различные состояния ОИ М — Н$]^{-}$ можно объяснить присутствием E- и Z-конформеров. Действительно, разница полных энергий ($\Delta E_{м}$) молекул 1,4-бензодиазепин-2-онов для двух неэквивалентных конформаций с E- и Z-конфигурациями амидной группы в расчетах методом частичного пренебрежения дифференциальным перекрыванием (ЧПДП)

Таблица 3.3. **Потенциалы ионизации ЗМО соединений VII, IX, XII, XIV, XVI, связанных с ФЭС**

МО-орбиталь	Потенциал ионизации, эВ				
	IX	XVI	VII	XII	XIV
НЭП$_2$ (N$_1$)	8,59	8,91	8,78	8,73	8,93
σ_1-МО	9,27	9,23	9,04	8,95	9,10
НЭП$_1$ (N$_1$)	9,42	9,44	9,31	9,35	9,56
σ_2-МО	9,73	9,95	9,68	9,93	9,78
НЭП$_2$ (N$_4$)	9,93	10,14	10,14	10,17	10,17
НЭП$_1$ (N$_4$)	10,45	10,70	10,45	10,51	10,75

составляет несколько сотых электронвольта. Оценка двух конформеров по формуле $n/n_0 = \exp\frac{\Delta E_{м}}{KT}$ при $\Delta E_{м} = 0{,}01$ эВ и $T = 473$ К хорошо согласуется с соотношением интенсивностей двух пиков М — Н$]^{-}$ в масс-спектрах ИО изученных соединений. Предположение о наличии E- и Z-конформеров в газовой фазе позволяет интерпретировать ФЭС изученных БД на основе расчетов молекул указанных соединений методами полного пренебрежения дифференциального перекрывания (ППДП/2) и ЧПДП.

Геометрия гетерокольца взята из работы [14]. При расчетах угол поворота φ кольца С относительно азометиновой связи изменялся от 0 до 180° с шагом 15°. Полная энергия молекул без орто-эффекта (соединения VII, XII, XIV) достигала минимума при 145°. Это значение φ хорошо согласуется с данными рентгеноструктурного анализа 1,4-бензодиазепинов [15].

У Z-конформеров независимо от параметра φ ВЗМО является НЭП атома N$_1$, второй ЗМО — σ-МО гетероцикла, третьей ЗМО — НЭП атома N$_4$. Отношение трех ЗМО к семичленному гетерокольцу проконтролировано пофрагментными расчетами. Все три ЗМО сохраняют свой вид при расчетах как незамещенных в 5-м положении молекул БД, так и семичленного гетерокольца без обоих бензольных колец.

Изменение Z-конфигурации амидной группы в E-конфигурацию приводит к выходу НЭП (N$_1$) из сопряжения с π-системой кольца А и переориентирует НЭП (N$_1$) по отношению к σ-остову гетерокольца.

4 7–2934

Для определения смещения каждой ЗМО при переходе молекулы БД из Z- в E-конформацию использовано свойство ОМИ распадаться по определенным каналам в зависимости от того, с какой ЗМО связано их образование [17] (табл. 3.3).

Таким образом, у рассмотренных соединений первый, четвертый и шестой пики ПИ в ФЭС относятся ко второму, а второй, третий и пятый — к первому состоянию $[M-H]^{-}$ в масс-спектрах отрицательных ионов.

Таблица 3.4. Разность энергий (ΔE) резонансов ОМИ и ЗМО, связанных с этими резонансами в ФЭС

Соединение	ΔE резонансов ОМИ в диапазоне 3—5 эВ	ПИ максимумов в ФЭС в области 8,5—10,5 эВ
VII	0,25	0,26
IX	0,70	0,68
XII	0,25	0,23
XIV	0,26	0,27
XVI	0,35	0,32

Сопоставление масс- и ФЭ-спектров возможно потому, что они образуются возбуждением электронов с нескольких ЗМО на одну и ту же низшую валентную молекулярную орбиталь (НВМО), с образованием серии резонансов, значение ΔE между которыми совпадает с величиной ΔE между ЗМО, отображенными в ФЭС исследованных соединений. Например, у соединения IX ΔE между резонансами при $E_{эл} = 2{,}90$ эВ и $E_{эл} = 3{,}60$ эВ равно 0,70 эВ, а между двумя пиками ПИ 8,59 и 9,27 эВ — составляет 0,68 эВ. Аналогичные соотношения справедливы и для остальных рассмотренных соединений (табл. 3.4).

По аналогии с работой [18] в качестве основного признака изменения структуры при изучении зависимости структура — активность взята разница энергий ПИ НЭП N_1 и N_4 из ФЭС изученных соединений в виде

$$\Delta E_1 = \text{ПИ}\,[\text{НЭП}_1\,(N_4)] - \text{ПИ}\,[\text{НЭП}_1\,(N_1)]; \quad (3.8)$$

$$\Delta E_2 = \text{ПИ}\,[\text{НЭП}_2\,(N_4)] - \text{ПИ}\,[\text{НЭП}_2\,(N_1)]. \quad (3.9)$$

На основании этих соотношений составлена новая функция ΔE^* как линейная комбинация ΔE_1 и ΔE_2 (табл. 3.5):

$$\Delta E^* = C_1 \Delta E_1 + C_2 \Delta E_2. \quad (3.10)$$

Таблица 3.5. Аффинность к БДР, противосудорожная активность и значение функции ΔE^*

Соединение	K_i, нмоль	ΔE конформера, эВ		ΔE^*, эВ	$ЭД_{50}$ по тесту антагонизма с коразолом, мг/кг
		Z	E		
VII	3,5	0,83	1,67	0,87	0,11
IX	2,1	0,51	1,86	0,51	0,037
XII	53	0,82	1,78	1,38	7,5
XIV	7400	0,61	1,82	1,63	12,8
XVI	3,3	0,70	1,79	0,70	0,04

Вклад каждого конформера задавался коэффициентами C_1 и C_2, величины которых для соединений VII, IX, XII, XIV, XVI определялись по пикам ОИ $M - H^{\urcorner -}$.

Для соединений IX и XVI при комнатной температуре функция ΔE^* принимает вид $\Delta E^* = \Delta E_1$. Для остальных трех соединений величина ΔE^* задается соответственно соотношениями (табл. 3.5).

$$\Delta E^* = 0{,}95\Delta E_1 + 0{,}05\Delta E_2; \qquad (3.11)$$

$$\Delta E^* = 0{,}42\Delta E_1 + 0{,}58\Delta E_2; \qquad (3.12)$$

$$\Delta E^* = 0{,}16\Delta E_1 + 0{,}84\Delta E_2. \qquad (3.13)$$

Сопоставление между собой значений $\lg K_i$ и $(\Delta E^*)^n$ при $n = 1, 2, 3$ позволило выявить хорошие корреляционные зависимости, причем установлено, что коэффициент корреляции повышается при увеличении n (при $n = 1$ $r = 0{,}92$; при $n = 2$ $r = 0{,}96$; при $n = 3$ $r = 0{,}98$).

Хорошая корреляционная зависимость ($r \geqslant 0{,}90$) наблюдается только между величинами K_i и ΔE^*. При сопоставлении между собой K_i, $\lg K_i$ и энергий любых других ЗМО или их простых комбинаций значимых ($r \geqslant 0{,}80$) корреляционных зависимостей обнаружить не удалось. Высокий коэффициент корреляции между величинами K_i и ΔE^* позволяет предположить, что неподеленные электронные пары атомов азота N_1 и N_4 могут быть элементами, которые принимают участие в образовании связей между молекулой 1,4-бенздиазепин-2-она и активным центром БДР.

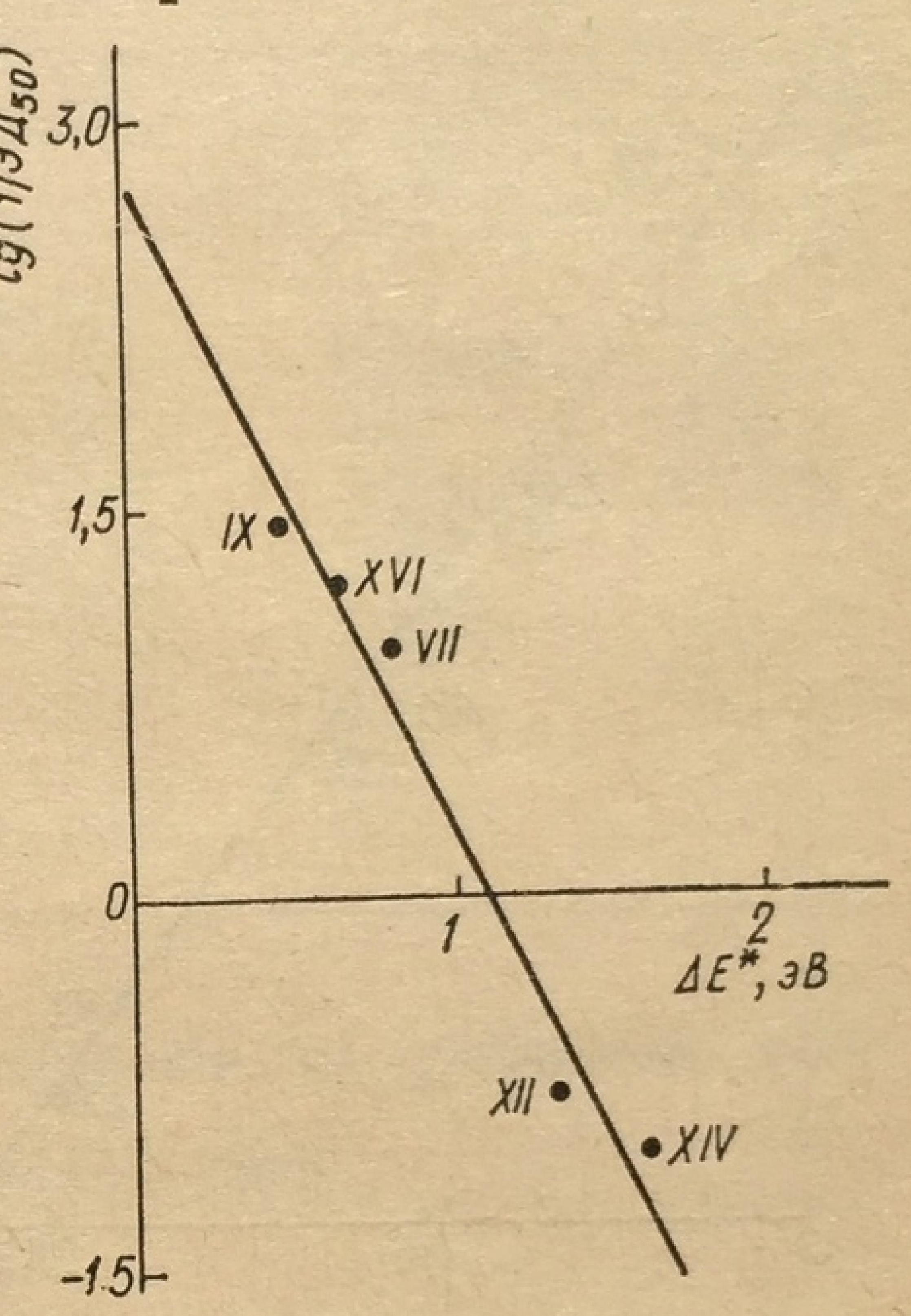


Рис. 3.4. Зависимость противосудорожной активности соединений VII, IX, XII, XIV, XVI от разности энергий ΔE^*

Для изученных соединений коэффициент корреляции между величинами $\lg K_i$ и $ЭД_{50}$ по тесту антагонизма с коразолом равен 0,92, что указывает на то, что значения $ЭД_{50}$ и ΔE^* также должны коррелировать между собой. Связь между ними описывается уравнением (рис. 3.4):

$$\lg \frac{1}{ЭД_{50}} = -2{,}51\Delta E^* + 2{,}86 \quad (r = 0{,}98;\ \hat{t} = 8{,}52;\ n = 5). \qquad (3.14)$$

Таким образом, исследование структуры соединений VII, IX, XII, XIV, XVI двумя взаимно дополняющими методами позволило предположить наличие у 1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов двух неэквивалентных равновесных конформеров с Z (*цис*)- и E (*транс*)-конфигурацией амидного фрагмента. В зависимости от природы и положения заместителей R^1 и R^2 в молекуле 1,4-бенздиазепин-2-онов изменяется равновесное содержание E- и Z-конформеров. Высокий

аффиннитет соединений VII, IX, XVI согласуется с предположением о том, что Z-конфигурация амидного фрагмента необходима для проявления анксиолитической активности БД [19, 20].

Связь между противосудорожной активностью и аффинностью к БДР в ряду 5-(*о*-галогенфенил)-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов, их 3-окси- и 1-метил-производных может быть описана одним корреляционным уравнением

$$\lg \frac{1}{ЭД_{50}} = -(2{,}69 \pm 0{,}14) \lg K_i + 2{,}41 \pm 0{,}06 \quad (r = 0{,}994;\ \hat{t} = 25{,}70). \tag{3.15}$$

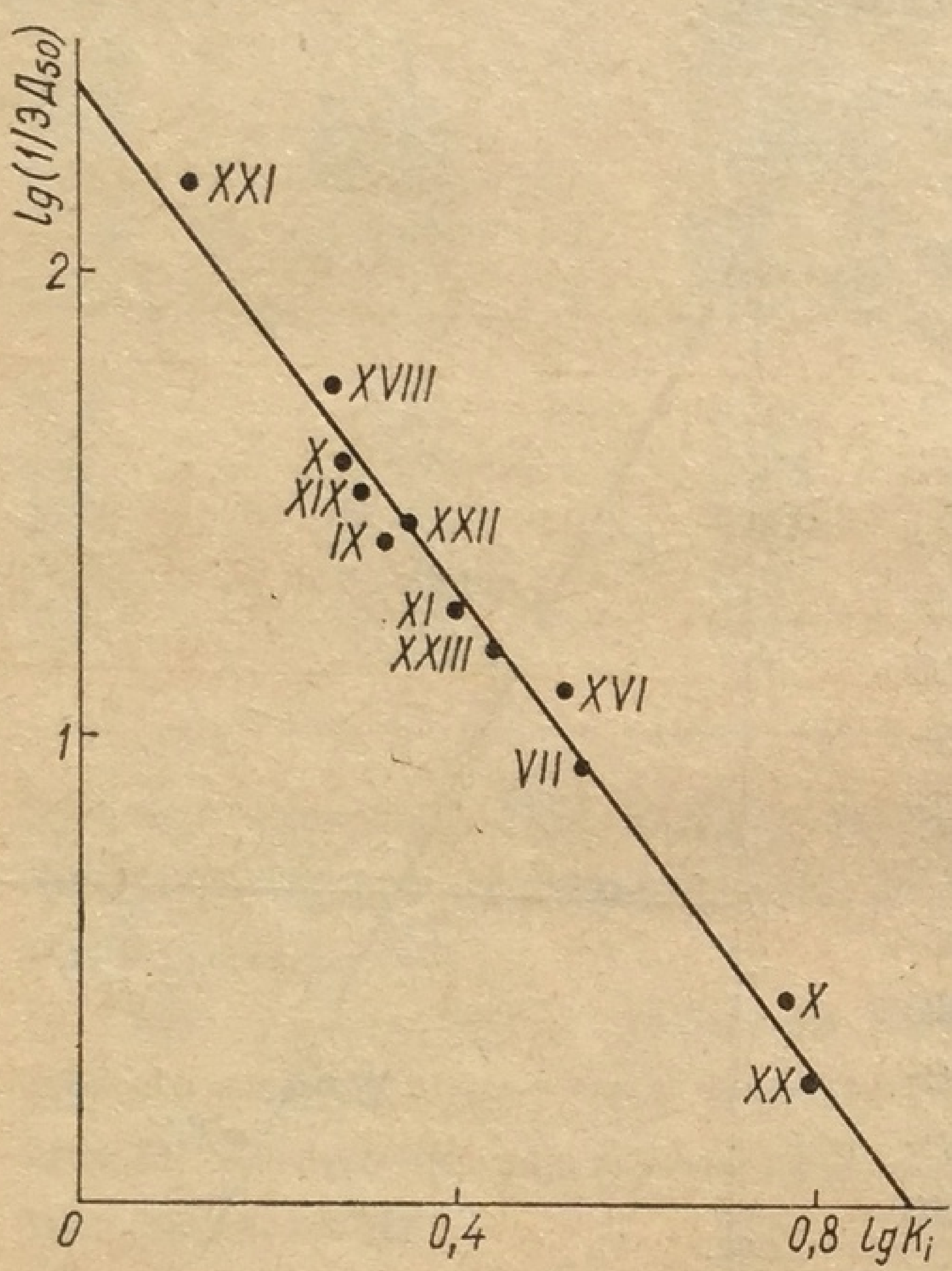


Рис. 3.5. Зависимость между противосудорожной активностью и аффинностью к БДР ряда 5-(*о*-галоген)фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов

При выводе этой формулы использованы величины K_i и $ЭД_{50}$ десяти изученных нами соединений (табл. 3.6). Прогнозирующую способность уравнения (3.15) проверяли расчетом $ЭД_{50}$ соединений, представленных в табл. 3.7. Относительная ошибка определения не превышает 20 %, и значения $ЭД_{50}$ (экспер.) хорошо «ложатся» на теоретическую прямую выражения (3.15) (рис. 3.5). Но оно неприменимо для расчета $ЭД_{50}$ 1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов, величина K_i которых превышает 10 нмоль. По-видимому, корреляционное уравнение (3.15) очень чувствительно к изменению природы заместителя не только в 5-м, но и в 7-м положении молекулы 1,4-бенздиазепин-2-онов. 7-Нитро-1,4-бенздиазепин-2-оны описываются этим уравнением только при наличии 5-(*о*-галоген)фенильного заместителя и связанного с ним *орто*-эффекта.

В молекуле 5-(*о*-галогенфенил)-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов ВЗМО (σ-МО) взаимодействует с π-МО кольца С через π-систему азометиновой связи. Изменение угла поворота φ фенильного кольца под влиянием *о*-заместителя приводит к уменьшению взаимодействия этих орбиталей, вследствие чего энергия ВЗМО понижается. В результате взаимодействия ВЗМО с НЭП (N_1) последняя стабилизируется по энергии. Неподеленная электронная пара *орто*-заместителя, атома Cl, лежащего в плоскости фенильного кольца, через σ-связи взаимодействует с НЭП (N_4), увеличивая ее энергию, и разница потенциалов ионизации НЭП (N_1) и НЭП (N_4) у 5-(*о*-галоген)фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов становится меньше, чем у других 5-фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов.

В ряду 7-галоген-5-(*о*-галоген)фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов, где возможен расчет $\lg P$ по аддитивной схеме с

Таблица 3.6. **Аффинность к БДР, противосудорожная активность и липофильность 5-(*о*-галогенфенил)-1,4-бенздиазепин-2-онов и их 1-метил- и 3-оксипроизводных**

Соединение	R^1	R^2	R^3	R^4	K_i, нмоль	$ЭД_{50}$ по тесту с коразолом, мг/кг	lg P
VII	Br	H	H	H	3,5±0,2	0,11	3,11
IX	Br	H	H	Cl	2,1±0,1	0,037	3,30
XI	Br	H	H	Br	2,5±0,2	0,05	3,30
XVI	Cl	H	H	Cl	3,3±0,11	0,074	3,12
XVII	Br	CH_3	H	Cl	1,9±0,08	0,025	—
XVIII	Br	H	OH	Cl	1,8±0,10	0,017	—
X	Cl	H	H	H	5,7±0,31	0,35	2,93
XIX	Cl	H	OH	Cl	2,0±0,10	0,028	—
XX	Cl	CH_3	H	H	6,1±0,22	0,51	—
XXI	NO_2	H	H	Cl	1,3±0,06	0,0063	—

Таблица 3.7. **Экспериментальная и рассчитанная по уравнению (3.5) противосудорожная активность некоторых 5-(*о*-галогенфенил)-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов**

Соединение	R^1	R^2	R^3	K_i, нмоль	$ЭД_{50}$ по тесту антагонизма с коразолом, мг/кг		Относительная ошибка, %
					Эксперимент	Расчет	
XVII	Br	CH_3	Cl	1,9	0,025 (0,008±0,053)	0,022	14
XX	Cl	CH_3	H	6,12	0,51 (0,39±0,67)	0,508	0
XXI	NO_2	H	Cl	1,3	0,0063 (0,0026±0,016)	0,008	21
XXII	NO_2	CH_3	F	2,75±0,05	0,060	0,059	2
XXIII	Cl	H	F	2,2±0,04	0,035	0,033	6

Таблица 3.8. **Влияние 7-замещенных 5-метил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов на ГАМК-стимуляцию связывания ³Н-диазепама с СМ в присутствии 10 мкМ ГАМК**

Соединение	R	Концентрация БД, нМ	ГАМК-стимуляция связывания ³Н-диазепама, %
II	H	$3{,}5 \cdot 10^{-5}$	102±2,0
XXIV	Br	$2{,}5 \cdot 10^{-5}$	117±1,5
III	NO_2	$3{,}6 \cdot 10^{-5}$	126±2,2
Контроль	—	—	128±0,5

помощью уравнения

$$\lg K_i = -1{,}08 \cdot \lg P + 3{,}90 \quad (r = 0{,}98;\ \hat{t} = 8{,}53;\ n = 5), \qquad (3.16)$$

можно вычислить значение K_i.

Используя полученное значение $\lg K_i$, по выражению (3.15) можно определить величину противосудорожной активности. В качестве примера рассмотрим 7-хлор-5-(*о*-бром)фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-он, для которого не определяли K_i. Расчет $\lg P$ по аддитивной схеме [21] дает значения $\lg P = 3{,}12$. Значения K_i и $ЭД_{50}$, согласно уравнениям (3.15) и (3.16), равны 3,39 нмоль и 0,104 мг/кг. Величина $ЭД_{50}$ (экспер.) равна 0,075 мг/кг.

Теоретическая величина $ЭД_{50}$ достоверно не отличается от экспериментальной ($P \leqslant 0{,}05$).

5-Метил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-оны. Данные соединения, непосредственно не конкурируя за активные центры ГАМК- и БДР, по-видимому, все же влияют на функционирование ГАМК-БД-рецепторного ансамбля. В работе [22] установлено, что это вещество подавляет специфическое связывание ³Н-диазепама с БДР под действием ГАМК (ГАМК-стимуляция). Эффективно повышают специфическое связывание ³Н-диазепама соединения, которые взаимодействуют с ГАМКР [23—25].

В результате ГАМК-стимуляции уменьшается константа диссоциации комплексов ³Н-диазепам-БДР, т. е. повышается аффинность БДР при сохранении плотности рецепторов.

Таблица 3.9. **Психофармакологические свойства 5-метил-1,2-дигидро-3Н-**

Соединение	Возбуждающее действие					
	Судорожное действие		Повышение агрессивности		Повышение возбудимости	
	1	2	1	2	1	2
II	20	50	10	++	15	80
XXIV	80	0	20—40	+	40	66
III	1—40	0	1—40	0	1—40	0

Примечание: 1 — доза, мг/кг; 2 — эффект, %.

В связи с проведенными исследованиями нам представлялось интересным сопоставить психотропные свойства и влияние на ГАМК-стимуляцию 5-метил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов

II. R = H;
XXIV. R = Br;
III. $R = NO_2$.

Результаты приведены в табл. 3.8.

В соответствии с данными [22] 5-метил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-он (II) подавляет ГАМК-стимуляцию связывания ^{3}Н-диазепама с БДР. Соединение XXIV подавляет ГАМК-стимуляцию в меньшей степени, а 7-нитропроизводное III практически на нее не влияет. В зависимости от способности подавлять ГАМК-стимуляцию изменяется и фармакологический спектр действия рассматриваемых соединений (табл. 3.9).

5-Метил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-он (II) уменьшает двигательную активность, нарушает координацию движений и ориентировочные рефлексы, повышает возбудимость и агрессивность животных, вызывает тремор, а в больших дозах — и судороги. По своей конвульсантной активности соединение II аналогично известному антагонисту ГАМК — пикротоксину [22]. У 7-бромпроизводного XXIV отсутствует четко выраженный фармакологический спектр действия. В дозе 20—80 мг/кг это соединение не проявляло ни седативных, ни конвульсивных свойств. Соединение III, практически не влияя на ГАМК-стимуляцию, в отличие от II и XXIV тропно к БДР. Указанное соединение в максимально возможной концентрации, определяемой растворимостью, ингибирует связывание ^{3}Н-диазепама на 25 %. Приближенное значение K_i соединения III (15,2 мкмоль), определенное путем экстраполяции кривой ингибирования, характеризует его как соединение, обладающее значительно более высокой аффинностью к БДР, чем предполагаемые ранее эндогенные лиганды — инозин ($K_i = 1{,}3$ ммоль) и гипоксантин ($K_i = 1{,}28$ ммоль) [26]. Величина $K_i = 15{,}2$ мкмоль, по сравнению с

1,4-бенздиазепин-2-онов

Седативное действие							
Антагонизм с коразолом		Нарушение координации движений		Нарушение ориентировочных рефлексов		Снижение двигательной активности	
1	2	1	2	1	2	1	2
40	0	10	50	5	50	10	+++
20—80	0	20—80	0	20—80	0	20—80	0
80	50	10	33	10	80	10	+

таковой для 5-арил-замещенных бензодиазепинов, безусловно, большая, но здесь важен сам факт, что транквилизирующая активность (см. табл. 3.9) появляется только при наличии тропности к БДР [27]. Действительно, 7-нитропроизводное XVII проявляет седативное и выраженное противосудорожное действие, напоминая в этом отношении 5-арил-бензодиазепиноны. Величина $\lg \frac{1}{ЭД_{50}}$ 7-нитро-5-метил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-она хорошо описывается корреляционным уравнением (3.1) (см. рис. 3.1).

3.2. 7-Замещенные-5-фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-оны

Важная роль природы заместителя в 7-м положении при определении активности 1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов отмечалась всеми исследователями, анализировавшими связь структура — активность в ряду производных 1,4-бенздиазепина. Поэтому представлялось важным изучить связь между аффинностью к БДР, активностью и некоторыми физико-химическими свойствами 7-замещенных-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов:

XXV. R = CH_3; XXVI. R = NH_2; XXVII. R = NHAc; V. R = H; X. R = Cl; VII. R = Br; XXVIII. R = $OCHF_2$; XXIX. R = CF_3; IV. R = NO_2.

Результаты исследований приведены в табл. 3.10. Зависимость между фармакологической активностью по тестам антагонизма с коразолом, потенцирования гексеналового сна и аффинностью к БДР соединений IV, V, VII, X, XXV—XXIX описывается соответствующими корреляционными уравнениями при $n = 9$ (рис. 3.6):

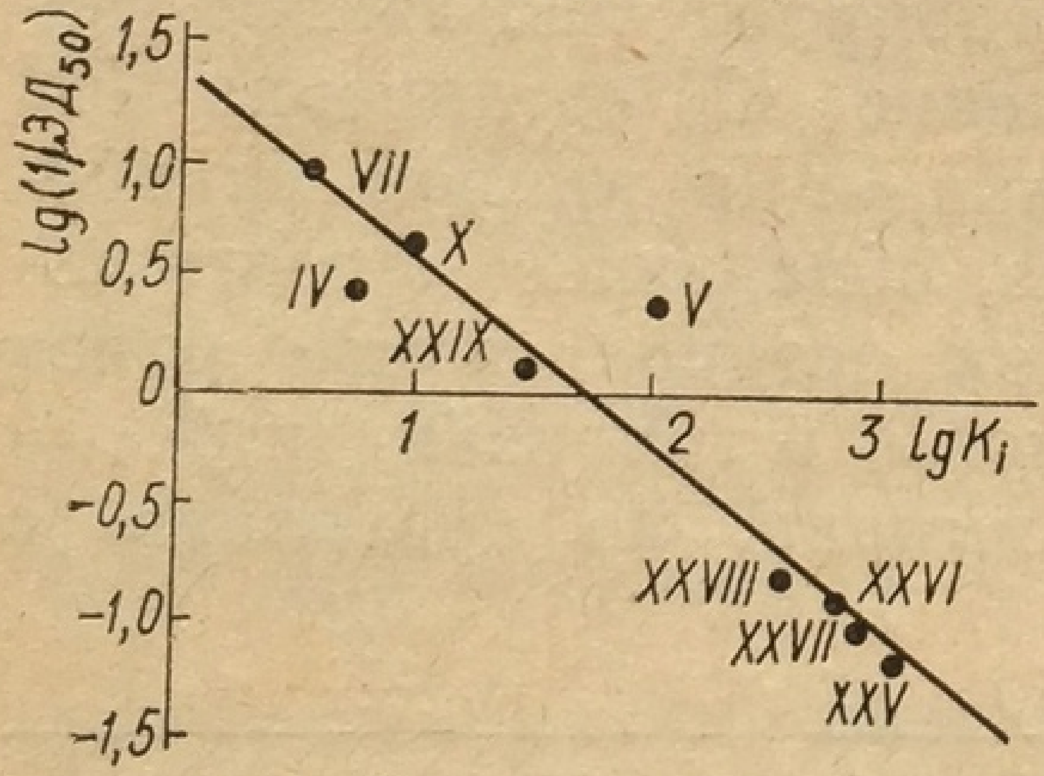


Рис. 3.6. Зависимость между противосудорожной активностью и аффинностью к БДР ряда 7-замещенных-5-фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов

$$\lg \frac{1}{ЭД_{50}} = -0,79 \lg K_i + 1,35$$

$$(r = 0,96;\ \hat{t} = 9,07); \qquad (3.17)$$

$$\lg \frac{1}{ЭД_{50}} = -0,87 \lg K_i + 1,39$$

$$(r = 0,92;\ \hat{t} = 6,21). \qquad (3.18)$$

Выражение (3.17), которое охватывает широкий диапазон величин $ЭД_{50}$ и K_i, как и полученное для циклогомологов 1,4-бенздиазепинов, применимо для расчета противосудорожной активности большинства 1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов.

В работе [30] методом ППДП/2 проведен квантовохимический расчет ряда 1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепинов. Координаты атомов

Таблица 3.10. Аффинность к БДР, физико-химические свойства и фармакологическая активность соединений IV, V, VII, XXV—XXIX

Соединение	R	K_i, нмоль	lg P	pK_a	$\sigma_м$	pK_a	σ_n	ЭД₅₀, мг/кг: Коразол	ЭД₅₀, мг/кг: Гексенал
XXV	CH_3	1200±110	2,71	4,51	—0,06	13,64	—0,17	16,0	40
XXVI	NH_2	680±40	1,50	4,45	—0,16	14,41	—0,66	9,4	8,0
XXVII	NHAc	880±60	1,16	3,89	0,21	12,10	0,00	11,5	14
V	H	110±30	2,28	4,20	0,00	12,37	0,00	0,42	1,55
X	Cl	5,7±0,12	2,93	3,58	0,37	12,02	0,23	0,35	0,9
VII	Br	3,5±0,2	3,11	3,53	0,39	11,99	0,23	0,11	0,10
XXVIII	$OCHF_2$	390±35	1,87	3,54	0,31	12,27	0,18	5,2	—
XXIX	CF_3	35±6	—	3,45	0,43	—	0,54	0,75	—
IV	NO_2	12,5±0,6	2,16	2,93	0,71	10,44	0,78	0,27	0,09

и геометрия гетерокольца задавались данными рентгеноструктурного анализа диазепама.

Анализ соотношений величин зарядов на атомах и констант Гаммета заместителей позволил установить, что между собой хорошо коррелируют qN_4 и $\sigma_м$ ($r = 0{,}99$), qO и σ_n ($r = 0{,}99$), удовлетворительно qC_2 и σ_n ($r = 0{,}94$) и не коррелируют ($r \leqslant 0{,}5$) величины qN_4 и σ_n, qN_1 и $\sigma_м$. Высокий коэффициент корреляции между qN_4 и $\sigma_м$ объясняет хорошую корреляционную зависимость pK'_a и $\sigma_м$. Электронно-донорные заместители, увеличивающие электронную плотность, а следовательно, и заряд на атоме N_4, повышают, а электроноакцепторные снижают основность (pK'_a) этих соединений. Величина pK'_a хорошо коррелирует ($r = 0{,}99$) и с их дипольным моментом. Для соединений IV, V, VII, X, XXV—XXIX зависимость между величинами pK'_a и $\sigma_м$ описывается корреляционным уравнением

$$pK'_a = -1{,}90\sigma_м + 4{,}33 \quad (r = 0{,}99;\ \hat{t} = 18{,}57;\ n = 9). \qquad (3.19)$$

Ранее было показано, что в ряду 7-замещенных 1,4-бензодиазепин-2-онов VII, IV, V, X, XXV противосудорожная активность по тесту антагонизма с коразолом коррелирует с величинами pK'_a и pK_a с коэффициентами корреляции 0,86 и 0,87 [28]. Расширение этого ряда приводит к исчезновению корреляционных соотношений между ними. Ввиду того, что тропность к рецептору и противосудорожная активность соединений IV, V, VII, X, XXV—XXIX описывается уравнением (3.17), можно ожидать отсутствия корреляционных соотношений между pK_a, pK'_a и K_i. Из физико-химических свойств рассмотрены липофильность и кислотно-основные свойства соединений. Величины lg K_i, lg $\frac{1}{ЭД_{50}}$ по тестам антагонизма с коразолом и потенцирования гексеналового сна и lg P соединений IV, V, VII, X, XXV—XXIX между собой не коррелируют. В отличие от 5-(галоген)фенил-1,4-бензодиазепин-2-онов, для которых можно предположить, что липофильность характеризует не только способ-

ность проникать через биомембраны, но и сродство к активному центру БДР, для 7-замещенных 5-фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов вклад величины $\lg P$ в формирование сродства к рецептору, по-видимому, неадекватен.

Кислотно-основные свойства 1,4-бенздиазепинов, которые характеризуются величинами pK_a могут играть немаловажную роль при взаимодействии этих веществ с БДР [20]. Обычно константы протолитического равновесия pK_a и pK_a'

определяют спектрофотометрически в водном растворе [28] или потенциометрическим титрованием раствором хлорной кислоты в метилэтилкетоне [29]. Величины pK_a и pK_a' ряда 7-замещенных 5-фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов хорошо коррелируют ($r = 0{,}98$ и $r = 0{,}96$) с константами Гаммета $\sigma_м$ и σ_n [28]. Действительно, влияние величин pK_a и pK_a' на аффинность соединений IV, V, VII, X, XXV—XXIX к БДР не однозначно. Сопоставление между собой значений K_i и pK_a' соединений IV, V, VII, X, XXV позволило установить зависимость, которая описывается выражением [20]

$$\lg K_i = 2{,}52 \cdot pK_a' - 8{,}32 \quad (r = 0{,}98;\ \hat{t} = 8{,}53;\ n = 5). \qquad (3.20)$$

Включение в рассмотренный ряд остальных соединений приводит к резкому уменьшению коэффициента корреляции ($r = 0{,}75$) между величинами $\lg K_i$ и pK_a'. Значения pK_a изученных соединений не коррелируют с аффинностью к БДР не только в ряду IV, V, VII, X, XXV—XXIV, но и при уменьшении числа объектов исследования до пяти соединений.

7-Дифторметилтио-5-фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-он. При определении константы ингибирования K_i соединения XXX на применяемых нами синаптических мембранах (P_2) получен неожиданный результат. Обычно равновесие при образовании комплексов между ^{3}Н-диазепамом, конкурирующим БД и БДР устанавливается в течение 15—30 мин. Для рассмотренных выше 1,4-бенздиазепин-2-онов значение SB/SB_0 в диапазоне 30—120 мин статистически достоверно не изменяется. В случае 7-дифторметилтио-5-фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-она эта величина возрастает при увеличении времени инкубации. Скорость изменения этого соотношения возрастает при переходе от СМ P_2 (А) к синаптосомальной фракции P_2 (табл. 3.11).

После обработки P_2 (А) 0,01 %-ным раствором тритон Х-100 в 50 мМ *трис*-HCl скорость изменения соотношения SB/SB_0 практически равна нулю, что свидетельствует о диссоциации комплексов рецептор — ингибитор или уменьшении концентрации ин-

Таблица 3.11. **Влияние 7-дифторметилтио-5-фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-она на специфическое связывание ^{3}Н-диазепама**

Препарат, содержащий БДР	Специфическое связывание ^{3}Н-диазепама, фмоль/мг, через						
	SB_0	30 мин		60 мин		120 мин	
		SB_t	$\frac{SB_t}{SB_0}$	SB_t	$\frac{SB_t}{SB_0}$	SB_t	$\frac{SB_t}{SB_0}$
P_2	311,4±9,4	195,0±5,4	63	223,9±10,1	72	298,6±8,5	96
P_2 (A)	295,3±5,0	156,5±9,2	53	152,9±7,6	59	176,3±6,3	68
P_2 (B)	281,0±6,4	141,0±8,7	50	143,3±5,3	51	144,8±10,1	48

гибитора. Диссоциация комплекса рецептор — лиганд вследствие инактивации рецептора в течение 90—120 мин маловероятна, а уменьшение концентрации ингибитора может быть связано с его биотрансформацией. В работах [31—33] описано влияние биотрансформации 3-карбоксизамещенных 7-хлор-5-фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов (X) на способность этих соединений ингибировать специфическое связывание ^{3}Н-диазепама с БДР:

XXXI —(in vivo / in vitro)→ XXXII

Сохранение эстеразной активности у мембранно-связанных ферментов синаптосомальной фракции P_2 из мозга крыс приводит к гидролизу сложноэфирной связи у соединения XXXI с образованием нового ингибитора — оксазепама (XXV). В результате накопления более аффинного ингибитора при проведении радиорецепторного эксперимента величина SB/SB_0 непрерывно уменьшается. Гидролиз соединения XXXI может быть прекращен обработкой СМ 1 мМ раствором диизопропилфторфосфата, ковалентного ингибитора эстераз [33]. Влияние протеолитической активности мембранно-связанных ферментов на биотрансформацию дипептидоаминобензофенонов рассмотрено в работах [34—37].

В случае 7-дифторметилтио-5-фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-она (XXX) наблюдается отщепление дифторметильного радикала с образованием 7-меркапто-5-фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-она (XXXIII):

XXX → XXXIII → XXXIV (Белок)

Этот процесс in vitro особенно заметно протекает на гомогенате целого мозга. Экстракция инкубационной среды кипящим бензолом с последующим его удалением в вакууме позволила путем хроматографии остатка разделить 7-меркапто-(XXXIII) и 7-дифторметилтио-1,2-дигидро-3H-1,4-бенздиазепин-2-оны (XXX) (рис. 3.7). Индивидуальность выделенных соединений контролировалась методом тонкослойной хроматографии (ТСХ), строение выделенного 7-меркаптопроизводного XXXIII подтверждали сравнением его УФ- и масс-спектров с соответствующими спектрами синтезированного 7-меркапто-5-фенил-1,2-дигидро-3H-1,4-бенздиазепин-2-она.

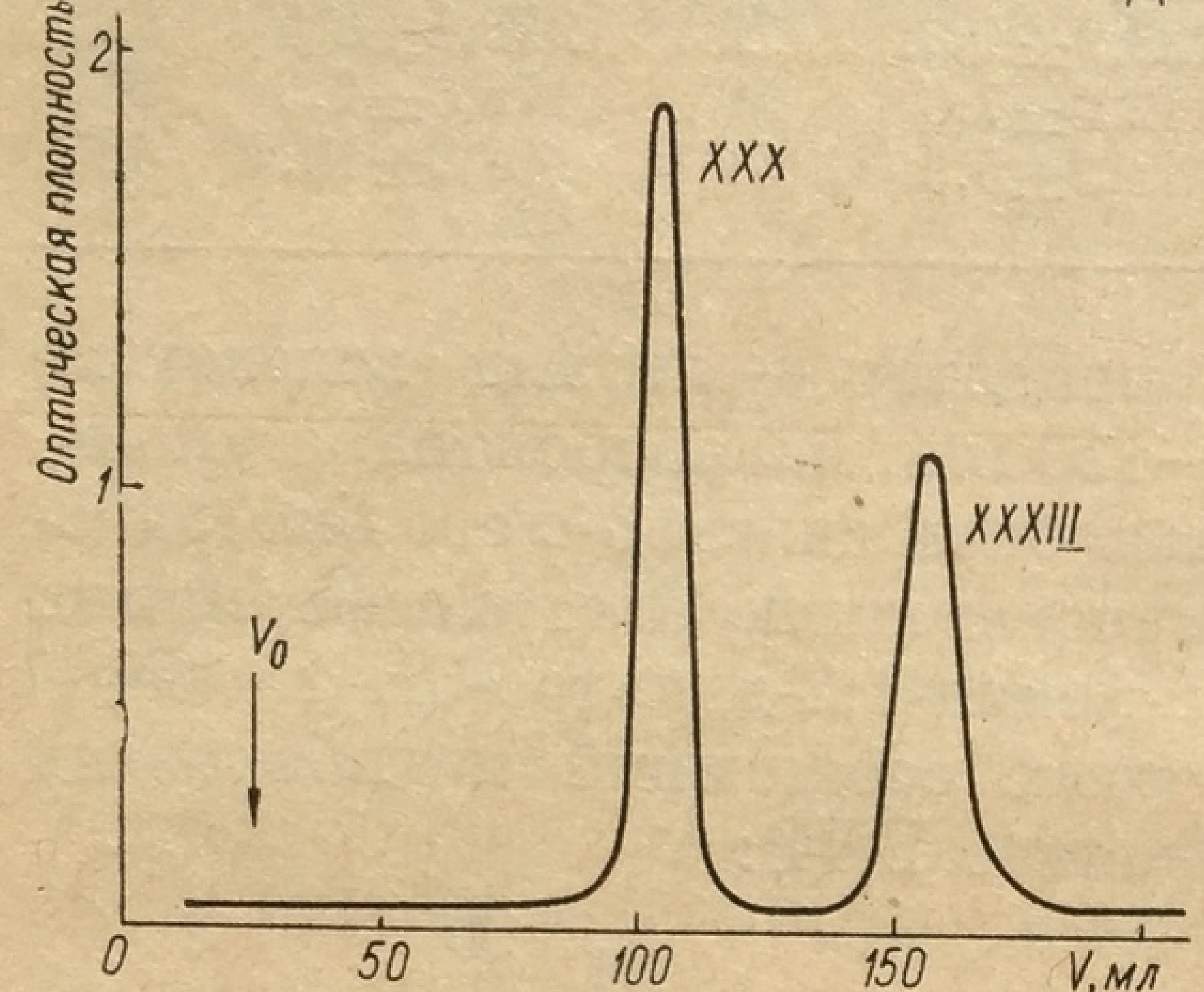


Рис. 3.7. Разделение 7-меркапто (XXXIII)- и 7-дифторметилтио (XXX)-5-фенил-1,2-дигидро-3H-1,4-бенздиазепин-2-онов на колонке $1{,}6 \times 40$ см с сефадексом LH-20 в 80 %-ном метаноле. (Скорость элюирования — 0,25 мл/(мин · см); V_e/V_0 (XXXIII) = 4,2; V_e/V_0 (XXX) = 6,2)

В опытах на гомогенатах целого мозга доля свободного 7-меркаптопроизводного XXXIII невелика. Основное количество этого соединения находится в мембранно-связанном состоянии XXXIV за счет дисульфидных связей с остатками цистеина мембранных белков. Добавление к инкубационной среде 10 мМ раствора меркаптоэтанола или 50 мМ раствора цистеина при pH = 8,0 позволяет в мягких условиях восстановить дисульфидные связи. В результате этого в бензольном экстракте увеличивается содержание соединения XXXIII. Используя 2-^{14}C-дифторметилтио-5-фенил-1,2-дигидро-3H-1,4-бенздиазепин-2-он, можно обнаружить радиоактивность в осадке СМ. Соотношение XXXIII/XXXIV для гомогената мозга равно 3 : 7. Для фракции СМ P_2 это соотношение составляет 9 : 2. Необратимое связывание соединения XXXIII с активным центром БДР обнаружить не удалось. После инкубации СМ (P_2) в 20 мМ растворе феназепама (в течение 3 ч при 0 °C), в отсутствие и в присутствии (1,0 мМ) соединения XXX, характеристики (K_D и B_m) специфического связывания ^{3}H-диазепама не изменяются (рис. 3.8). Перед определением величин K_D и B_m суспензию СМ 5 раз промывали 100-кратным объемом 50 мМ *трис*-HCl-буфера (pH 7,4). Число операций промывки осадка СМ узнавали по уменьшению радиоактивности ^{3}H-диазепама ($A_м$ = 2,84 ГБк/ммоль) и ^{3}H-феназепама ($A_м$ = 82,9 ТБк/ммоль) до уровня неспецифического связывания этих радиолигандов.

Для фракции СМ P_2 (В), где подавлена дезметилазная активность, величина K_i соединения XXX равна $1{,}56 \pm 0{,}03$ мкмоль. Добавление к СМ P_2 (*В*) ГАМК приводит к увеличению аффинности БДР приблизительно до уровня аффинности этих рецепторов в фракции СМ P_2 (А). В этих условиях K_i соединения XXX составляют $2{,}10 \pm 0{,}02$ мкмоль.

Величина ЭД$_{50}$ соединения XXX, рассчитанная по уравнению (3.7), равна 18,4 мг/кг, что не соответствует результатам эксперимента (ЭД$_{50}$ > 100 мг/кг).

В работе [38] показано, что низкая проницаемость через ГЭБ или быстрый распад в организме некоторых триазолобенздиазепинов могут приводить к несоответствию между аффинностью к БДР и фармакологической активностью. Величина K_i соединения U-43 465 составляет 7,5 нмоль, тогда как in vivo этот препарат как транквилизатор не активен.

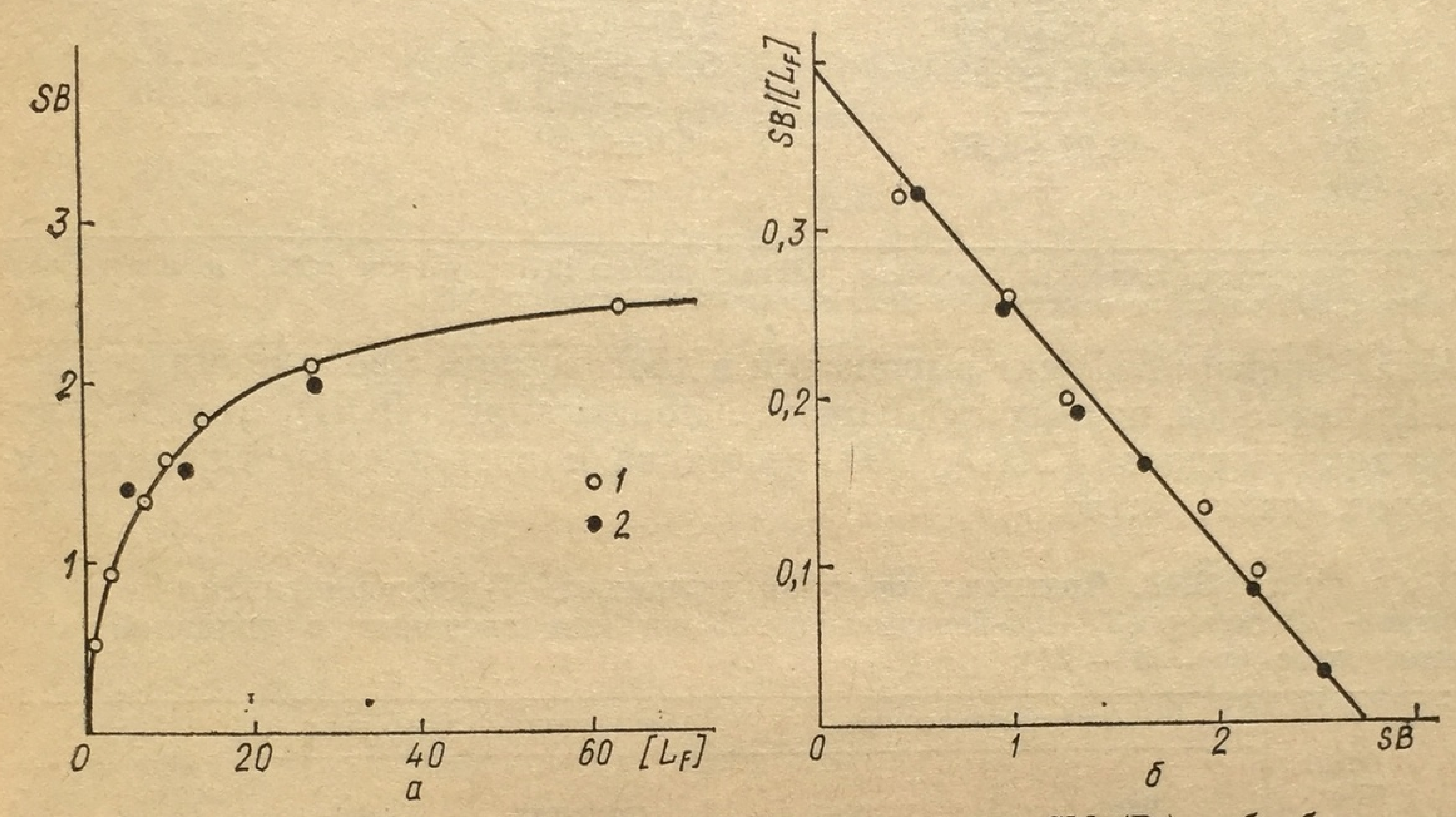


Рис. 3.8. Характеристики связывания ^{3}H-диазепама с СМ (P_2), обработанных 20 нМ раствором феназепама в присутствии (*1*) и в отсутствие (*2*) 1 мкМ 7-дифторметилтио-5-фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-она:

а — зависимость специфического связывания (*SB*) от концентрации несвязанного радиолиганда [L_F]; *б* — график Скетчарда связывания ^{3}*H*-диазепама с БДР

Изучение кинетики накопления в головном мозге 7-дифторметилтио-5-фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-она и феназепама показало, то степень проникновения через гемато-энцефалический барьер (ГЭБ) у соединения XXX невелика (табл. 3.12). В отличие от феназепама, для которого наблюдается максимум накопления этого вещества в головном мозге, соединение XXX и его метаболит XXXV поступают в мозг равномерно и в диапазоне 5—120 мин насыщения головного мозга этими соединениями не наблюдается. Небольшая проницаемость через ГЭБ вещества XXX может быть связана с низкой его липофильностью. Константы lg P, характеризующие липофильные свойства 7-дифторметилтио-5-фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-она и феназепама, равны 1,68 и 3,30 [21].

Преодолеть трудности проникновения психотропного препарата через ГЭБ и исключить его биотрансформацию вне ЦНС можно с помощью внутримозговых инъекций. При введении в боковой желудочек мозга крысы 45—180 мкг вещества XXX обнаружен отчетливый защитный эффект против судорожного действия коразола. Двигательную активность (ДВА) крыс регистрировали по методике

Таблица 3.12. **Динамика распределения в головном мозгу 7-дифторметилтио-(XXX), 3-окси-7-дифторметилтио-(XXXV)-, 1,2-дигидро-3Н-1,4-4-бенздиазепин-2-она и феназепама (IX)**

Время, мин	Содержание в мозгу, мкг/г, после в/б введения в дозе		
	10 мг/кг		14 мг/кг *
	Соединение XXX	Соединение XXXV	Феназепам (IX)
5	4,05±0,26	2,60±0,36	—
15	5,69±0,59	3,81±0,77	228,52
30	8,75±0,54	5,61±0,98	1881,90
60	—	—	1411,46
120	12,91±0,50	6,0±0,40	—
180	—	—	235,61

* Результаты получены пересчетом данных работы [39] с учетом эффективности счета и молярной радиоактивности 2-^{14}С-феназепама (37 МБк/ммоль) [40].

[41]. Защитный эффект выражался в достоверном увеличении латентных периодов первых судорожных проявлений (ПСП), тонико-клонических судорог (ТКС), ТКС-припадка и в снижении тяжести судорог (табл. 3.13).

Таблица 3.13. **Противосудорожная активность 7-дифторметилтио-5-фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-она при введении в головной мозг крыс ($n = 6 - 11$)**

Доза, мкг	Латентный период		Проявления у животных, %		Интенсивность судорог, баллы *
	ППС	ТКС	ТКС БП	тремора	
0 (контроль)	30,2±1,5	57,2±5,7	100	0	4,0
45	43,5±2,5	117,6±20,5	100	0	3,5±0,23
70	63,1±6,6	163,9±52,6	81,8	54,5±15,0	3,0±0,19
90	75,2±11	423±130	60±22	100	2,6±1,0
180	92,3±15	627±100	40±2,1	100	2,2±0,25

* Интенсивность судорог выражали в баллах по следующей шкале: 0 — отсутствие судорожной реакции; 1 — судорожные вздрагивания; 2 — отдельные клонические судороги; 3 — ТКС; 4 — смертельные ТКС с боковым положением животного.

Начиная с дозы 70 мкг у животных, наряду с судорогами, наблюдался и сильный тремор. При одновременной регистрации ДВА и электрокортикограммы (ЭКоГ) выявлено, что при судорожном разряде в коре головного мозга синхронно возникает тремор, в продолжении которого амплитуда судорожных разрядов в ЭКоГ значительно уменьшается. Этот эффект нарастал по мере увеличения количества соединения XXX, введенного в мозг. В случае в/б инъекции аналогичный эффект достигается при дозах соединения XXX более 120 мг/кг.

При внутрижелудочковом введении 180 мкг 7-дифторметилтио-5-фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-она защитный эффект наблюдался через 5—10 мин после введения коразола и отсутствовал

при его введении через 30—35 мин после микроинъекции. Такая особенность действия препарата может быть объяснена как быстрой его деградацией в мозге, так и уменьшением его концентрации в результате элиминирования из головного мозга в кровь.

Таким образом, кроме влияния биотрансформации на величины K_i и $ЭД_{50}$, необходимо учитывать и проницаемость исследуемых соединений через ГЭБ. В первом приближении это можно сделать путем вычисления коэффициентов распределения ($\lg P$) исследуемых соединений.

3.3. Влияние биотрансформации на фармакологическую активность 1,4-бенздиазепинов

Роль того или иного психотропного препарата в механизме его действия на ЦНС, в проявлении его фармакологических и терапевтических свойств не может быть адекватно выявлена без учета его биотрансформации и фармакокинетики как самого препарата, так и его метаболитов. Как правило, вклад препарата в общий эффект может быть оценен лишь с получением данных о его действии на активные центры ЦНС на молекулярном уровне. Не менее важен учет влияния биотрансформации и фармакокинетики препаратов при их структурно-функциональном исследовании. Показано [2], что диазепам (XX) и хлордиазепоксид (XXXVI) в организме мышей в несколько стадий превращаются в один и тот же метаболит — 7-хлор-5-фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-он (X), который в свою очередь трансформируется в оксазепам (XXXII):

XX → X; XXXVI → XXXVII → X; X → XXXII

Дезметилдиазепам (X) по противосудорожной активности и тропности к БДР значительно превосходит соединения XXXVI и XXXVII (табл. 3.14). Величины K_i и $ЭД_{50}$ по тестам антагонизма с коразолом и потенцирования гексеналового сна соединений XX, X, XXXII одного порядка. Скорость образования и накопления метаболитов неодинакова и зависит от активности ферментных систем организма, связанных с биотрансформацией 1,4-бенздиазепин-2-онов.

Таблица 3.14. **Психофармакологические свойства и аффинность к БДР изученных соединений**

Соединение	K_i, нмоль	ЭД$_{50}$, мг/кг				
		Антагонизм с коразолом	Потенцирование гексеналового сна	Нарушение ориентировочных рефлексов	Нарушение координации движений	Максимальный электрошок
XX	6,1±0,13	0,51 (0,39—0,67)	0,66 (0,53—0,80)	2,8 (2,3—3,2)	2,75 (1,37—5,5)	3,5 (1,75—7,0)
XXXVI	385±17,0	4,6 (3,3—6,4)	3,5 (2,4—5,1)	13,5 (9,64—18,9)	11,8 (10,6—13,1)	17,0 (12,5—23,1)
XXXVII	152±12	2,7 (2,4—3,2)	1,2 (1,16—1,34)	6,0	5,4 (3,9—7,6)	—
X	5,7±0,21	0,35 (0,23—0,53)	0,90 (0,57—1,41)	3,7 (2,46—5,5)	14,0 (9,6—20,3)	18,0 (17,0—19,1)
XXXII	19	0,55 (0,36—0,84)	0,4 (0,25—0,63)	10,0 (7,7—13,3)	5,6 (3,4—9,3)	38,0 (24,5—59,9)

Соединение XXXVII образуется и накапливается достаточно быстро, а скорость накопления метаболита X в организме мышей невелика [42—44]. Тем не менее его вклад в величины ЭД$_{50}$ может стать существенным в продолжительном эксперименте. Фармакологическая активность психотропных препаратов зависит от скорости их проникновения в ЦНС. Изучение распределения ^{14}С-хлордиазепоксида (XXXVI) показало, что через 5 мин после его введения в организм мышей распределение радиоактивного материала характеризуется низким уровнем препарата ^{14}С в крови и высоким — в мозге [45]. Быстрое исчезновение вещества XXXVI из крови объясняется тем, что оно хорошо проникает через ГЭБ. Высокая концентрация 1,4-бенздиазепин-2-онов в головном мозге способствует эффективному их взаимодействию с БДР. Следовательно, наблюдаемый сразу после введения препарата животным и некоторое время спустя фармакологический эффект, выраженный величиной ЭД$_{50}$, обусловлен хлордиазепоксидом. В продолжении эксперимента увеличивается количество активных метаболитов (XXXVII и X), которые, накапливаясь в мозге, конкурентно изменяют связывание хлордиазепоксида с БДР и значение ЭД$_{50}$.

В табл. 3.15 приведены фармакологическая активность и аффинность к БДР изученных соединений VII, IX, XVI, XVIII, XIX, XXXVIII—XL.

3-Окси-1,4-бенздиазепин-2-оны, основные метаболиты БД, обнаруживаются в мозге крыс и мышей уже через 10—15 мин после внутрибрюшинного (в/б) введения [46, 47]. Первые исследования метаболизма оксазепама (XXXII) показали, что наличие гидроксильной группы в 3-м положении определяет его глюкуроновую и сульфатную конъюгации [48]. В организме крыс и мышей примерно половина количества 3-оксипроизводных 1,4-бенздиазепин-2-онов находится в конъюгированной форме [49]. Структура 3-оксиконъюгата оксазепама и глюкуроновой кислоты (Г) установлена в работе [50]. Реакции ароматического гидроксилирования и О-метилирования при-

Таблица 3.15. **Аффинность к БДР и психофармакологические свойства VII, IX, XVI, XVIII, XIX, XXXVI—XL**

Соединение	R^1	R^2	R^3	R^4	K_i, нмоль	ЭД$_{50}$, мг/кг, по тестам	
						антагонизм с коразолом	потенцирование гексеналового сна
VII	Br	H	H	H	3,5±0,2	0,11 (0,06—0,15)	0,10 (0,05—0,24)
XVI	Cl	H	H	Cl	3,3±0,11	0,074 (0,056—0,091)	0,05 (0,04—0,06)
XIX	Cl	H	OH	Cl	2,0±0,1	0,028 (0,020—0,038)	0,12
IX	Br	H	H	Cl	2,1±0,1	0,037 (0,026—0,052)	0,09 (0,03—0,31)
XVIII	Br	H	OH	Cl	1,8±0,05	0,017 (0,012—0,34)	0,084 (0,062—0,11)
XXXVIII	Br	—	—	Cl	585±30	40 (24,6—66)	5,0 (4,0—6,25)
XXXIX	Br	—	—	H	410±20	5,8	4,0
XL	Br	—	—	Cl	12 300±150	104 (94,5—114,4)	150

водят к ряду 5-(*п*, *м*-замещенных фенил)-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенз-диазепин-2-онов, которые обладают низкой аффинностью к БДР [6,51].

В результате реакции конъюгации метаболитов с глюкуроновой кислотой образуются производные Д, которые, как и производные

5 7—2934

Г, быстро выводятся из организма [2]:

Г

Д

Для определения значения $ЭД_{50}$ необходимо использовать методики, позволяющие свести к минимуму или исключить влияние метаболитов. Например, при оценке активности веществ по тесту антагонизма с коразолом достаточно сократить время между введением исследуемого соединения и коразола. При исследовании связи между фармакологической активностью и тропностью к БДР весьма перспективным представляется определение $ЭД_{50}$ препаратов с помощью внутримозговых инъекций. Этот метод позволяет полностью исключить биотрансформацию вне ЦНС и преодолеть ряд трудностей, связанных с проникновением препаратов через ГЭБ.

Для диазепама (XX) влияние метаболита X на величину $ЭД_{50}$ по тестам антагонизма с коразолом и потенцирования гексеналового сна будет менее заметным, чем для хлордиазепоксида (XXXVI), даже в длительном эксперименте, поскольку активность и тропность к БДР у соединения X приблизительно такие же, как у диазепама (XX).

Упрощенно образование основных метаболитов 1,4-бенздиазепин-2-онов показано на следующей схеме:

VII, XVI

X, XVIII

XXXVIII, XXXIX

XL

В результате реакции сужения гетерокольца [52, 54] из 3-окси-1,4-бенздиазепин-2-онов в организме животных и человека образуются их низшие циклогомологи — 4-фенил-1,2-дигидро-1,3-хиназолин-2-оны (XXXVII, XXXIX). Активность и сродство к БДР 1,3-хиназолин-2-онов значительно ниже, чем у 1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов и находится на уровне хлордиазепоксида (XXXVI). Гидролитическое расщепление 1,4-бенздиазепин-2-онов приводит к замещенным *о*-аминобензофенонам [56]. 2-Аминобензофеноны имеют низкое сродство к БДР и незначительную психотропную активность. Однако тропность к БДР соединения XL заметно выше, чем у некоторых эндогенных ингибиторов, таких как инозин, гипоксантин, ($K_i = 1{,}1$ ммоль), аденозин ($K_i = 4{,}4$ ммоль) и кофеин ($K_i = 0{,}39$ ммоль) [57]. Сопоставление между собой величин K_i и $ЭД_{50}$ по тестам антагонизма с коразолом и потенцирования гексеналового сна соединений VII, IX, XVI, XVIII, XIX, XXXVIII—XL дает хорошие корреляционные зависимости, которые описываются уравнениями

$$\lg \frac{1}{ЭД_{50}} = -0{,}94 \cdot \lg K_i + 1{,}56 \quad (r = 0{,}98;\ \hat{t} = 12{,}06;\ n = 8); \quad (3.21)$$

$$\lg \frac{1}{ЭД_{50}} = -0{,}78 \cdot \lg K_i + 1{,}28 \quad (r = 0{,}98;\ \hat{t} = 12{,}06;\ n = 8). \quad (3.22)$$

Несмотря на одинаковый высокий коэффициент корреляции, прогнозирующая способность выражений (3.21) и (3.22) различна. В табл. 3.16 приведены экспериментальные и рассчитанные с использованием их величины $ЭД_{50}$ соединений XXXVI, XXXII, IX, IV.

Значение K_i соединения XXXII взято из работы [58], в которой условия определения ингибирующей способности 1,4-бенздиазепинов очень близки к таковым остальных веществ.

Эффективные дозы соединений IV, XI, XXXII, XXXVI, рассчитанные по уравнению (3.21), хорошо совпадают с экспериментальными данными. Для теста антагонизма с коразолом величины K_i и $ЭД_{50}$ изменяются строго симбатно. Результаты расчета $ЭД_{50}$ по уравнению (3.22) значительно хуже согласуются с опытными данными. По-видимому, это можно объяснить тем, что при выводе уравнения (3.22) были использованы значения $ЭД_{50}$, недостаточно не зависимые от влияния метаболитов. Фенобарбитал и в некоторой степени гексенал [59] ускоряют реакции окисления ксенобиотиков с участием монооксигеназных систем печени, в том числе и реакцию 3-С-гидроксилирования 1,4-бенздиазепин-2-онов [2], путем увеличения активности НАДФ-Н-цитохром-С-редуктазы. Тот же гексенал в результате взаимодействия со специфическими местами связывания барбитуратов в рамках ГАМК-БД-рецепторного комплекса аллостерически повышает аффинность БДР [60, 61]. Поэтому даже небольшое увеличение скорости образования, а следовательно, и повышение в головном мозге концентрации 3-окси-производных 1,4-бенздиазепин-2-онов, будет конкурентно изменять связывание с БДР исследуемого препарата.

Таблица 3.16. Экспериментальная и рассчитанная по уравнениям (3.21 и 3.22) фармакологическая активность ряда 1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов

Соединение	R^1	R^2	R^3	X	K_i, нмоль	ЭД$_{50}$, мг/кг					
						Антагонизм с коразолом			Потенцирование гексеналового сна		
						Эксперимент	Расчет	Ошибка, %	Эксперимент	Расчет	Ошибка, %
XXXVI	Cl	H	H	O	152±12	2,7 (2,4—3,2)	3,10	13	1,2 (1,16—1,24)	2,46	51
XXXII	Cl	OH	H	—	19 *	0,55 (0,36—0,84)	0,44	20	0,40 (0,25—0,63)	0,52	23
XI	Br	H	Br	—	2,5±0,2	0,05 (0,032—0,077)	0,065	23	0,20 (0,10—0,40)	0,11	82
IV	NO_2	H	H	—	12,5±0,5	0,27 (0,15—0,48)	0,29	10	0,09 (0,06—0,12)	0,40	78

* Значение взято из работы [58].

Сужение указанного ряда до 5-(*о*-галоген)фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов и их 3-окси-производных приводит к увеличению коэффициента корреляции уравнения, которое описывает связь между противосудорожной активностью и аффиннитетом к БДР:

$$\lg \frac{1}{ЭД_{50}} = -2{,}56 \cdot \lg K_i + 2{,}36 \quad (r = 0{,}99;\ \hat{t} = 12{,}16;\ n = 5). \quad (3.23)$$

3.4. 1, 2, 3, 4-Тетрагидро-5Н-1, 4-бенздиазепин-2-оны

По сравнению с 1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онами (Е) 1,2,3,4-тетрагидро-5Н-1,4-бенздиазепин-2-оны (Ж) менее изучены и не нашли практического применения.

Ж — XLI (R=Cl); XLII (R=Br); XLIII (R=H)

Е — X (R=Cl); VII (R=Br); V (R=H)

Между тем известно, что соединения Ж обладают выраженной психофармакологической активностью [62]. Восстановление азометиновой связи приводит к уменьшению последней [63] и аффинности к БДР [58, 64] 7-хлор-5-фенил-1,2,3,4-тетрагидро-5Н-1,4-бенздиазепин-2-она (XLI). Аналогичное изменение активности наблюдается и для тетрагидрофеназепама [65, 66]. Сопоставление величин K_i и ЭД$_{50}$ 7-хлор-5-фенил-1,2-дигидро-3Н-(X) и 7-хлор-5-фенил-1,2,3,4-тетрагидро-5Н-(XLI)-1,4-бенздиазепин-2-онов позволило выявить несоответствие между аффинностью к БДР и фармакологической активностью этих соединений (табл. 3.17).

Таблица 3.17. **Аффинность к БДР и фармакологическая активность 7-замещенных 5-фенил-1,2-дигидро-3Н- и 1,2,3,4-тетрагидро-5Н-1,4-бенздиазепин-2-онов**

Соединение	K_i, нмоль	ЭД$_{50}$, мг/кг			
		Антагонизм с судорожным действием		Потенцирование гексеналового сна	Угнетение ориентировочных реакций
		коразола	максимального электрошока		
X	5,9	0,35 (0,2—0,5)	18,0 (17,0—19,1)	0,9 (0,6—1,4)	3,7 (2,5—5,5)
XLI	5300±160	2,3 (1,3—3,9)	100 (55,6—160,0)	8,0 (4,8—13,2)	18,0 (13,2—24,3)

Таблица 3.16. Экспериментальная и рассчитанная по уравнениям (3.21 и

Соединение	R^1	R^2	R^3	X	K_i, нмоль
XXXVI	Cl	H	H	0	152±12
XXXII	Cl	OH	H	—	19 *
XI	Br	H	Br	—	2,5±0,2
IV	NO_2	H	H	—	12,5±0,5

* Значение взято из работы [58].

Сужение указанного ряда до 5-(*о*-галоген)фенил-1,2-дигидро-3H-1,4-бенздиазепин-2-онов и их 3-окси-производных приводит к увеличению коэффициента корреляции уравнения, которое описывает связь между противосудорожной активностью и аффиннитетом к БДР:

$$\lg \frac{1}{ЭД_{50}} = -2,56 \cdot \lg K_i + 2,36 \quad (r = 0,99;\ \hat{t} = 12,16;\ n = 5). \quad (3.23)$$

3.4. 1, 2, 3, 4-Тетрагидро-5H-1, 4-бенздиазепин-2-оны

По сравнению с 1,2-дигидро-3H-1,4-бенздиазепин-2-онами (Е) 1,2,3,4-тетрагидро-5H-1,4-бенздиазепин-2-оны (Ж) менее изучены и не нашли практического применения.

Ж: XLI (R=Cl); XLII (R=Br); XLIII (R=H)

Е: X (R=Cl); VII (R=Br); V (R=H)

Между тем известно, что соединения Ж обладают выраженной психофармакологической активностью [62]. Восстановление азо-

3.22) **фармакологическая активность ряда 1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов**

ЭД$_{50}$, мг/кг					
Антагонизм с коразолом			Потенцирование гексеналового сна		
Эксперимент	Расчет	Ошибка, %	Эксперимент	Расчет	Ошибка, %
2,7 (2,4—3,2)	3,10	13	1,2 (1,16—1,24)	2,46	51
0,55 (0,36—0,84)	0,44	20	0,40 (0,25—0,63)	0,52	23
0,05 (0,032—0,077)	0,065	23	0,20 (0,10—0,40)	0,11	82
0,27 (0,15—0,48)	0,29	10	0,09 (0,06—0,12)	0,40	78

метиновой связи приводит к уменьшению последней [63] и аффинности к БДР [58, 64] 7-хлор-5-фенил-1,2,3,4-тетрагидро-5Н-1,4-бенздиазепин-2-она (XLI). Аналогичное изменение активности наблюдается и для тетрагидрофеназепама [65, 66]. Сопоставление величин K_i и ЭД$_{50}$ 7-хлор-5-фенил-1,2-дигидро-3Н-(X) и 7-хлор-5-фенил-1,2,3,4-тетрагидро-5Н-(XLI)-1,4-бенздиазепин-2-онов позволило выявить несоответствие между аффинностью к БДР и фармакологической активностью этих соединений (табл. 3.17).

Таблица 3.17. **Аффинность к БДР и фармакологическая активность 7-замещенных 5-фенил-1,2-дигидро-3Н- и 1,2,3,4-тетрагидро-5Н-1,4-бенздиазепин-2-онов**

Соединение	K_i, нмоль	ЭД$_{50}$, мг/кг			
		Антагонизм с судорожным действием		Потенцирование гексеналового сна	Угнетение ориентировочных реакций
		коразола	максимального электрошока		
X	5,9	0,35 (0,2—0,5)	18,0 (17,0—19,1)	0,9 (0,6—1,4)	3,7 (2,5—5,5)
XLI	5300±160	2,3 (1,3—3,9)	100 (55,6—160,0)	8,0 (4,8—13,2)	18,0 (13,2—24,3)

Отношения величин $ЭД_{50}$ (XLI) к $ЭД_{50}$ (X) по тестам антагонизма с коразолом и потенцирования гексеналового сна равны 6,57 и 8,99, отношение же K_i (XLI) к K_i (X) составляет 898.

Аффинность соединений XLI—XLIII значительно ниже, чем у соответствующих 1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов. Величины K_i соединений XLI (5300 $\pm$ 160 нмоль), XLII (4500 $\pm$ 200 нмоль) и XLIII (9850 $\pm$ 350 нмоль), как и в случае 7-замещенных-5-фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов, возрастают в ряду H $>$ $>$ Cl $>$ Br.

Специфического связывания [5 — ^{3}H]-7-бром-5-фенил-1,2,3,4-тетрагидро-5Н-1,4-бенздиазепин-2-она (^{3}H — XLII) с СМ в широком интервале концентраций радиолиганда (0,1—100 нМ) обнаружить не удалось. Изменение pH, pI, температуры, природы вытесняющего агента при определении неспецифического связывания, а также добавление в инкубационную среду ГАМК не привело к появлению специфического связывания.

[5 —^{3}H]-XLII получен восстановлением соединения VII цинком и [1 —^{3}H]-уксусной кислотой в четыреххлористом углероде:

$$\text{VII} \xrightarrow[\text{CCl}_4]{[1-^3\text{H}]\text{AcOH/Zn}} [5-^3\text{H}]-\text{XLII}$$

Молярная радиоактивность (669 ГБк/ммоль) полученного соединения достаточна для радиорецепторных исследований БДР [51, 58]. Отсутствие специфического связывания этого радиолиганда с БДР доказывает низкую аффинность 1,2,3,4-тетрагидро-5Н-1,4-бенздиазепин-2-онов.

В работе [67] показано, что в организме животных тетрагидро-1,4-бенздиазепин-2-оны окисляются до дигидро-1,4-бенздиазепин-2-онов. Изучение накопления 1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов как метаболитов тетрагидро-производных показало, что, например, 7-^{3}H-фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-он (^{3}H-V) можно достоверно обнаружить в головном мозгу крыс уже через 5—10 мин после введения 5,7-^{3}H-5-фенил-1,2,3,4-тетрагидро-5Н-1,4-бенздиазепин-2-она (^{3}H-XLIII). Скорость накопления дигидропроизводного в головном мозгу сравнима с таковой для 3-окси-производных 1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов. Как было показано выше, достаточно быстрое накопление в головном мозгу более аффинного метаболита будет приводить к конкурентному вытеснению тестируемого препарата из его комплексов с БДР. Такая замена комплекса, в свою очередь, приведет к уменьшению величины $ЭД_{50}$. Использование в работе методики определения противосудорожной активности [68] препаратов, когда коразол вводится за 10 мин до наступления максимального защитного эффекта исследуемого вещества, позволило получить величину $ЭД_{50}$, отображающую активность как самого

тетрагидропроизводного XLI, так и его основного метаболита X (см. табл. 3.17).

Авторы работы [65] считают, что гидрированный феназепам, значительно уступая по фармакологической активности феназепаму и обладая меньшим снотворным и миорелаксантным действием, чем последний, характеризуется большей противосудорожной активностью по сравнению с применяемыми в практике диазепамом и хлордиазепоксидом.

Таким образом, аффиннитет к БДР, помимо 1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2онов, имеют и их тетрагидропроизводные. Степень уменьшения аффинности к БДР в результате восстановления азометиновой связи у 1,4-бенздиазепин-2-онов приблизительно совпадает с таковой при переходе от *о*- к *п*-изомерам в ряду 5-(галоген)фенил-1,4-бенздиазепин-2-онов. В принципе наличие азометиновой связи в молекуле 1,4-бенздиазепин-2-онов для проявления их тропности к БДР, по-видимому, необязательно, а быстрая биотрансформация 1,2,3,4-тетрагидро-5Н-1,4-бенздиазепин-2-онов делает эти соединения «мягкими» анксиолитиками.

3.5. 1, 2-Дигидро-3Н-1, 4-бенздиазепин-2-оны и их циклические гомологи

В работе [19] методом ППДП/2 проведены квантово-химические расчеты двух ациклических производных 2-амино-5-хлорбензофенона (З и И), отличающихся заместителями у амидного атома азота. Показано, что у N-метилпроизводного (З), потенциального анксиолитика, реализуется *Z (цис)*-конфигурация глициламидного фрагмента.

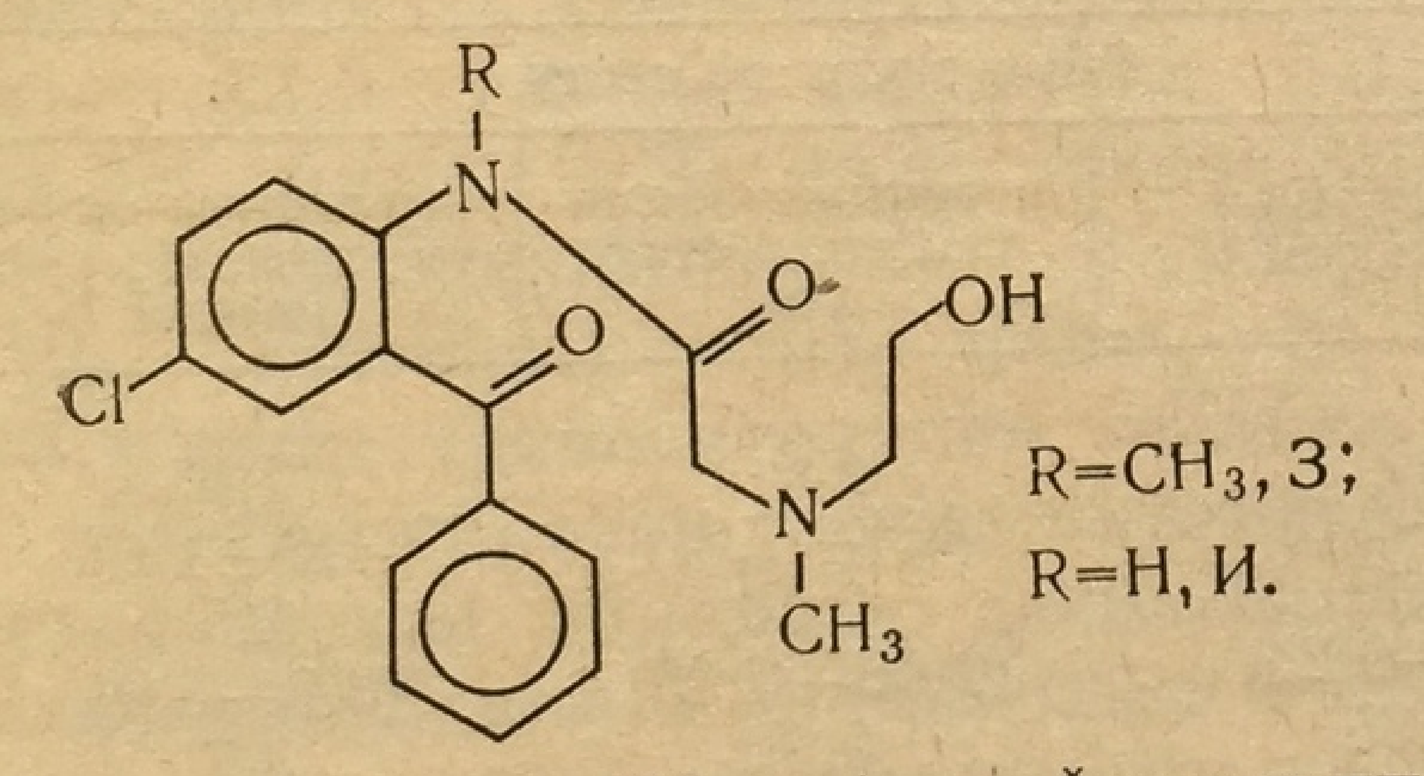


Рис. 3.9. Зависимость между противосудорожной активностью и аффинностью к БДР 1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов и их циклогомологов

Изменение *Z(цис)*-конфигурации амидной группы на *E(транс)*-конфигурацию приводит к потере психофармакологической активности у соединения И. В этой работе на основании квантово-химических расчетов сделано предположение о том, что именно *цис*-конфигурация амидной группы, а не наличие семичленного гетероцикла, является необходимым условием проявления анксиолитической активности диазепама. В связи с этим интересно сопоставить психотропные свойства соединений VII, IX, X, XLIV—XLVIII, отличающихся строением гетероциклического кольца, с их

аффинностью к БДР:

XXXIX: $n = 0$, $R^1 = Br$, $R^2 = R^3 = H$; VII: $n = 1$, $R^1 = Br$, $R^2 = R^3 = H$; X: $n = 1$, $R^1 = Cl$, $R^2 = R^3 = H$; IX: $n = 1$, $R^1 = Br$, $R^2 = H$, $R^3 = Cl$; XLIV: $n = 2$, $R^1 = Br$, $R^2 = CH_3$, $R^3 = H$; XLV: $n = 2$, $R^1 = Cl$, $R^2 = CH_3$, $R^3 = H$; XLVI: $n = 3$, $R = Br$; XLVII: $R = NO_2$.

Сродство соединений VII—IX, X, XLIV—XLVII к БДР оценивали по константам ингибирования K_i специфического связывания ^3H-диазепама с БДР. Полученные данные (табл. 3.18) свидетельствуют о том, что как высшие, так и низшие циклогомологи 1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов в различной степени, в зависимости от размеров гетероцикла, способны ингибировать специфическое связывание ^3H-диазепама с БДР. Эта способность наиболее выражена у 1,4-бенздиазепинов (рис. 3.9).

Аффинность к БДР у 6-бром-4-фенил-1,2-дигидро-1,3-хиназолин-2-она (XXXIX) значительно ниже таковой соответствующих 1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов, представленных в табл. 3.18.

Таблица 3.18. **Аффинность к БДР и психофармакологические свойства 1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов и их циклогомологов**

Соединение	K_i, нмоль	$ЭД_{50}$, мг/кг по тесту		
		антагонизма с коразолом	потенцирования гексеналового сна	нарушения ориентировочных рефлексов
XXXIX	410±20	5,8 (4,1—8,0)	4,0 (2,1—7,8)	7,6 (4,6—11,8)
VII	3,5±0,3	0,11 (0,05—0,24)	0,10 (0,06—0,15)	4,5 (3,9—5,0)
X	5,9±0,2	0,35 (0,23—0,53)	0,90 (0,57—1,41)	3,7 (2,46—5,51)
IX	2,1±0,3	0,037 (0,026—0,052)	0,09 (0,03—0,31)	1,05 (0,4—3,7)
XLIV	810±30	14,0 (10,1—19,3)	50	60
XLV	820±25	10 (6,4—15,6)	28 (16,9—46,2)	30 (18,7—48,0)
XLVI	10 400±312	200	17,5 (11,6—26,2)	100
XLVII	10 000±200	205 (125,8—217,7)	11,5 (7,1—18,4)	44 (33,1—58,5)
XXXVI	385±7,3	4,6 (3,6—6,4)	3,5 (2,4—5,1)	13,5 (9,6—18,9)

Действительно, 6-бром-4-фенил-1,2-дигидро-1,3-хиназолин-2-он имеет близкую к хлордиазепоксиду (XXXVI) тропность к БДР и фармакологическую активность по тестам антагонизма с коразолом и потенционирования гексеналового сна.

Менее выражена аффинность с БДР у производных тетрагидро-1,5-бенздиазепин-2-онов (XLIV, XLV). Значение K_i для производных 1,6-бенздиазонина (XLVI, XLVII) заметно выше K_i 6-, 7- и 8-членных циклогомологов, что указывает на низкую аффинность этих соединений. Столь низкая тропность производных 1,6-бенздиазонинов обусловлена, возможно, тем, что, в отличие от остальных рассматриваемых соединений, они имеют не лактамное, а лактимное строение [70], а это, в свою очередь, может проявляться при взаимодействии 1,6-бенздиазонинов с БДР. Сопоставление величин K_i и $ЭД_{50}$ исследованных соединений позволило установить хорошие корреляционные зависимости между величинами K_i и $\lg \frac{1}{ЭД_{50}}$ по тестам потенцирования гексеналового сна ($r = 0{,}91$), нарушения ориентировочных рефлексов ($r = 0{,}94$) и антагонизма с коразолом ($r = 0{,}99$).

Зависимость между тропностью к БДР и противосудорожной активностью по тестам антагонизма с коразолом для соединений VII, IX—X, XXXVI, XXXIX, XLIV—XLVII (см. рис. 3.9) описывается корреляционным уравнением

$$\lg \frac{1}{ЭД_{50}} = -0{,}92 \cdot \lg K_i + 1{,}53 \quad (r = 0{,}99;\ n = 9;\ \hat{t} = 18{,}57). \quad (3.24)$$

Это выражение охватывает широкий интервал величин K_i и $ЭД_{50}$, и с его помощью можно рассчитывать эффективные дозы ряда БД в широком интервале значений K_i. Например, для 7-нитро-фенил-1,2-дигидро-3H-1,4-бенздиазепин-2-она (IV) $ЭД_{50}$ (экспер.) = 0,27 мг/кг, $K_i = 12{,}5$ нмоль. Величина $ЭД_{50}$, рассчитанная по уравнению (3.24), равна 0,30 мг/кг (относительная ошибка 10 %). Для 5-[2-(N-метил)-бензимидазил]-1,2-дигидро-3H-1,4-бенздиазепин-2-она (VI) $ЭД_{50}$ (экспер.) = 8,8 мг/кг, $K_i = 693$ нмоль, $ЭД_{50}$ (расч.) = 12,4 мг/кг (относительная ошибка 30 %).

Таким образом, аффиннитетом к БДР, помимо БД, обладают их циклические гомологи: фенилхиназолин-2-оны, тетрагидро-1,5-бенздиазоцин-2-оны и 3,4-дигидро-1,6-бенздиазоцин-2-оны, причем тропность к рецептору указанных гетероциклов хорошо коррелирует с их активностью. Эти данные позволяют сделать вывод о том, что для проявления тропности к БДР, а следовательно, и необходимой фармакологической активности рассмотренных соединений размер гетерокольца, по-видимому, принципиального значения не имеет, хотя 7-членный цикл, вероятно, оптимален для проявления высокой фармакологической активности 1,4-бенздиазепин-2-онов.

1. *Sternbach L. H., Randal L., Gustafson S.* Phsychopharmacological agents.— New York : Acad. press, 1964.— P. 137—139.
2. *Богатский А. В., Андронати С. А., Головенко Н. Я.* Транквилизаторы. 1,4-бенздиазепины и родственные структуры.— Киев : Наук. думка, 1980.— С. 248-267.

3. *1,4,-Бенздиазепины,* их циклические гомологи и аналоги. 32. Структура и фармакологические свойства 7-галоидо-5-(замещенный фенил)-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов / А. В. Богатский, С. А. Андронати, Ю. И. Вихляев и др.// Хим.-фармацевт. журн.— 1977.— № 11.— С. 85—91.
4. *Sternbach L. H.* Chemistry of 1,4-benzodiazepines and some aspects of the ctructure-activity relationship // The Benzodiazepines / Ed. by S. Garattini, E. Mussini, L. Randall.— New York : Raven press.— 1977.— P. 1—6.
5. *1,4-Бенздиазепины* и их производные. 2. Синтез и свойства некоторых 1,3-дигидро-2Н-1,4-бенздиазепин-2-онов / С. А. Андронати, А. В. Богатский, Ю. И. Вихляев и др.// Журн. орган. химии.— 1970.— № 8.— С. 1881—1890.
6. *Связь* между структурой, сродством к бенздиазепиновому рецептору и свойствами 5-галогенфинил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онами / С. А. Андронати, В. М. Чепелев, Л. Н. Якубовская и др.//Биоорган. химия.— 1983.— № 10.— С. 1357—1361.
7. *В. И. Хвостенко, В. А. Мазунов, В. Г. Зыков.* Масс-спектроскопия резонансного захвата электронов и фотоэлектронная спектроскопия.— Уфа: Изд-во Башкир. фил. АН СССР, 1983.— С. 68—72.
8. *Андронати С. А.* Вопросы стереохимии.— 1973.— Вып. 3.— С. 3—10.
9. *Linsheid P., Lehn J.-M.* Etude cinetiques et conformationelles par resonsnce magnetique nucleaire. 7. Inversion de cicle dans des benzo-diazepinone // Bul. de la Soc. Chim. de France.— 1967.— N 3.— P. 992—997.
10. *Nuclear* Magnetic Resonance at 1,4-benzodiazepines. 2. Stereochemistry of 1,3-dihydro-2H-1,4-benzodiazepin-2-ones by lanthanide shift resgents / G. Romeo, M. C. Aversa, P. Gisnetto et al.// Org. Magn. Res.— 1979.— **12**, N 10.— P. 593—597.
11. *Haran R., Tuchagues J. P.* Carbon-13 and proton NMR studies of 1,4-benzodiazepines // Heterocyclic Chem.— 1980.— **17**, N 7.— P. 1483—1488.
12. *Nuhn P., Bley W.* NMR-spectroskopische Untersuchung von Arzneimitteln zur konformation von Diazepam, Nitrazepam und Chlordiazepoxid // Pharmaz.— 1967.— **22**, N 3.— P. 532—533.
13. *McDougall R. H., Walik S. H.* Reaction of 1,2- and 1,3-dicarbonyl compounds with 1,3-diamines: some new 1,4-benzodiazepines // J. Chem. Soc. C.— 1969.— N 15.— P. 2044—2051.
14. *Кристаллическая* и молекулярная структура 7-бром-5-(*о*-хлорфенил)-1,3-дигидро-2Н-1,4-бенздиазепин-2-она / А. А. Карапетян, В. Г. Андрианов, Ю. Т. Стручков и др.// Биоорган. химия.— 1979.— № 11.— С. 1684—1690.
15. *Crystal* and molecular structure of 7-chloro-1,3-dihydro-3-hydroxy-5-phenyl-2H-1,4-benzodiazepine-2-one (oxazepam) / G. Gilli, V. Bertolasi, M. Sacerdoti et al.// Acta Crystallogr.— 1978.— **34**, N 10.— P. 2826—2829.
16. *Camerman A., Camerman N.* Stereochemical Basis of Anticonvulsant Drug Action. 2. Molecular Structure of Diazepam // J. Amer. Chem. Soc.— 1972.— 94, N 12.— P. 268—272.
17. *Электронные* состояния и диссоциация отрицательных молекулярных ионов / О. Г. Хвостенко, Б. Г. Зыков, Н. Л. Асфандиаров и др.// Хим. физика.— 1985.— № 4.— С. 1366—1377.
18. *Взаимосвязь* биологической активности со структурой молекул некоторых производных пиперазино [1,2-а]индола — аналогов психотропного препарата пиразидола / О. Г. Хвостенко, В. И. Хвостенко, А. И. Ермаков и др.// Хим.-фармацевт. журн.— 1983.— № 10.— С. 1215—1222.
19. *Do glycylanilide* anxiolytics need a seven-membered structure to be active? A quantum mechanical study / F. Crasnier, J. F. Laburie, F. Fauran et al.// J. Mol. Struct.— 1981.— N 3/4.— P. 311—315.
20. *О влиянии* структурных и конформационных факторов на свойства 1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов / С. А. Андронати, Т. А. Воронина, В. И. Хвостенко и др.// Молекулярные основы действия психотропных средств.— М. : НИИ фармакологии, 1986.— С. 66—76.
21. *Липофильность* хиназолин-2-онов и 1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов / С. П. Смульский, А. В. Богатский, С. А. Андронати и др.// Докл. АН СССР.— 1977.— **235**, N 2.— С. 369—371.

22. *O'Brien R. A., Spirt N. M.* The inhibition of GABA-stimulated benzodiazepine binding by a convulsant benzodiazepine // Life Sci.— 1980.— 26, N 17.— P. 1441—1445.
23. *Tallman J. F., Thomas J. W., Gallanger D. W.* Identification of diazepam binding in intact animals // Ibid.— 1979.— 24, N 8.— P. 873—879.
24. *Is stimulation* of benzodiazepine receptor binding mediated by a novel GABA receptor? / M. Karoboch, P. Placheta, M. Lippitsch et al.// Nature.— 1979.— 278, N 5703.— P. 748—749.
25. *Chiu T. H., Rosenberg H. C.* GABA receptor-mediated modulation of ^{3}H-diazepam binding in rat cortex // Eur. J. Pharmacol.— 1979.— N 3.— P. 337—345.
26. *Asano T., Spector S.* Identification of inosine and hypoxantine as endogenous ligands for the brain benzodiazepine-binding sites // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1979.— N 2.— P. 977—982.
27. *Влияние* 5-метил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов на связывание ^{3}Н-диазепама с бенздиазепиновыми рецепторами и их психотропные свойства /С. А. Андронати, Т. А. Воронина, В. М. Чепелев и др.// Хим.-фармацевт. журн.— 1983.— № 11.— С. 1296—1300.
28. *Кислотно-основные* свойства 7-замещенных-5-фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов / А. В. Богатский, С. А. Андронати, С. П. Смульский и др.// Докл. АН СССР.— Сер. Б.— 1980.— № 2.— С. 51—52.
29. *1,4-Бенздиазепины,* их циклические гомологи и аналоги. 9. Основные свойства и строение дигидропроизводных 1,4-бенздиазепина / А. В. Богатский, С. А. Андронати, З. И. Жилина и др.// Журн. общ. химии.— 1972.— 42, № 11.— С. 2571—2575.
30. *Blair T., Webb G. A.* Electronic factors in the structure-activity relationship of some 1,4-benzodiazepine-2-ones // J. Med. Chem.— 1977.— 20, N 9.— P. 1206—1210.
31. *Oxazepam* esters. 1. Correlation between hydrolysis rates and brain appearance / G. Maksay, Z. S. Tegyey, V. Kemeny // Ibid.— 1979.— 22, N 12.— P. 1436—1443.
32. *Maksay G., Tegyey Z. S., Otvos L.* Oxazepam esters. 2. Correlation of hydrophobicity with serum binding, brain penetration and excretion // Ibid.— P. 1443—1447.
33. *Specific* binding of racemic oxazepam esters to rat brain synaptosomes and the influence of bioactivation by esterases / G. Maksay, J. Kardos, M. Simony // Arzneimittel-Forsch. (Drug Res.).— 1981.— 31, N 1.— P. 979—981.
34. *Detection* and determination of pharmacologically active benzodiazepines in rat, brain after administration of 2-*o*-chlorobenzyl-4-chloro-N-methyl-N-glycylglycinanilide using a combination of high-pressure liquid chromatography and radioreceptor assay / Nasafumi Fujimoto, Yoji Tsukinoki, Katsumi Hirose // Chem. and Pharm. Bull.— 1980.— 28, N 5.— P. 1378—1386.
35. *Interaction* of peptido-aminobenzophenones with benzodiazepine receptors / Masafumi Fujimoto, Yuji Tsukinoki, Tatsumi Hirose // Ibid.— P. 1374—1377.
36. *Peptidoaminobenzophenones,* a novel class of ring-opened derivatives of 1,4-benzodiazepines / Kentaro Hirai, Tezuyuki Ishida, Hirohiko Sugimoto // J. Med. Chem.— 1980.— 23, N 7.— P. 764—773.
37. *N-Substituted* (Sarcosylamino) benzophenones: Their synthesis and conversion into heterocycles / Kentaro Hirai, Tezuyuki Ishida, Hirohiko Sugimoto et al.// J. Org. Chem.— 1981.— 46, N 22.— P. 4489—4493.
38. *Sethy U. H., Russel R. R., Paenzer R. R.* Interaction of triazolobenzodiazepines with benzodiazepine receptor // J. Pharm. and Pharmacol.— 1983.— 35, N 8.— P. 524—552.
39. *Головенко Н. Я., Зиньковский В. Г.* Фармакокинетика феназепама // Феназепам.— Киев : Наук. думка.— 1982.— 263 с.
40. *Синтез* феназепама ^{14}С и его потенциальных метаболитов / Л. Н. Якубовская, А. В. Богатский, С. А. Андронати и др.// Хим.- фармацевт. журн.— 1979.— № 2.— С. 85—89.
41. *Изучение* противосудорожных свойств эномеланина / Г. Н. Крыжановский, Л. Б. Барцевич, Б. А. Лобасюк и др.// Бюл. экспер. биологии и медицины.— 1986.— № 2.— С. 174—177.

42. *The metabolitic* fate of ^{14}C-labelled chlorodiazepoxide in man, in the dog and in the rat / B. A. Koechlin, M. A. Schwartz, G. Krol et al.// J. Pharm. Exp. Ther.— 1965.— **148**, N 4.— P. 399—411.
43. *Continho C., Chezipko J., Carbone J.* Relationship between the duration of anticonvulsant activity of chlordiazepoxide and systemic levels of the parent compounds and its major metabolites in mise // Biochem. Pharmacol.— 1969.— 18, N2.— P. 303—316.
44. *Placidi G. F., Cassano G. B.* Distribution and metabolism of ^{14}C-labelled chlorodiazepoxide in mice // J. Neuropharmacol.— 1968.— N 7.— P. 383—386.
45. *Scawartz M. A., Postma E.* Metabolic N-Demethylation of chlordiazepoxide // J. Pharm. Sci.— 1966.— 55, N 5.— P. 1358—1362.
46. *Identification* and quantitative determination of biliary metabolites of diazepam in rats / I. G. Besber, G. Caille, G. Plaa et al.// Rev. Can. Biol.— 1973.— **32**, N 3.— P. 241—250.
47. *Metabolic* studies on benzodiazepines in various animal species / S. Garattini, E. Mussini, L. O. Randall // The Benzodiazepines. — New York : Raven press.— 1973.— P. 75—97.
48. *Susenwine S. F., Tio C. O., Ruelius H. W.* The metabolic transformation ofoxazepam in man, pig and rat // Pharmacology.— 1970.— **12**, N 2.— P. 272.
49. *The biotransformation* of oxazepam in man, miniature swine and rat / S. F. Sisenwine, C. O. Tio, S. R. Shrader et al.// Arzneimittel-Forsch. (Drug Res.).— 1972.— **22**, N 10.— P. 682—687.
50. *Gas-chromatographic* — mass spectrometric determination of intact C_3-hydroxylated benzodiazepine glucuronides in urine / C. Chiabrando, A. Frigerio, E. Mussini et al.// J. Chromatogr.— 1975.— **107**, N 2.— P. 286—293.
51. *Braestrup C., Squires R. F.* Brain specific benzodiazepine receptors // Brit. J. Psychiat.— 1979.— **133**, N 2.— P. 249—260.
52. *Участие* редокс-цепи микросом печени крыс в сужении кольца 1,4-бенздиазепинов / А. В. Богатский, Н. Я. Головенко, С. А. Андронати и др. — Докл. АН СССР.— 1977.— **234**, № 1.— С. 215—218.
53. *Schillings R. T., Sisenwine S. F., Ruelius H. W.* Disposition and metabolism of bromazepam in the male rat // Drug Metab. Dispos.— 1977.— 3, N 3.— P. 425—435.
54. *Lorasepam:* Glucuronide formation in the rat / R. T. Shillings, S. F. Sisenwine, M. A. Scharts et al.// Ibid.— 1975.— 3, N 1.— P. 85—88.
55. *Schillings R. T., Shrader S. R., Ruelius H. W.* Urinary metabolites of lorazepam in humans and four animal species // Arzneimittel-Forsch. (Drug Res.).— 1971.— **21**, N 11.— P. 1059—1065.
56. *Jommi G., Manito P., Silanos M. A.* Metabolism of diazepam in rabbits // Arch. Biochem. Biophys.— 1964.— **108**.— P. 562—568.
57. *Purinergic* inhibition of diazepam binding to rat brain (in vitro) / P. J. Marangos, S. M. Paul, A. M. Parma et al.// Life Sci.— 1979.— **29**, N 9.— P. 851—858.
58. *Biochemical* identification of the site of action of benzodiazepine in human brain by ^3H-diazepam binding / H. Mohler, T. Okada, Ph. Heitz et al.// Ibid.— 1978.— **22**, N 7.— P. 985—996.
59. *Лехович В. В., Цырлов И. Б.* Индукция ферментов метаболизма ксенобиотиков.— Новосибирск : Наука, 1981.— С. 79—81.
60. *Leeb-Lundberg F., Olsen R. W.* Interactions of barbiturates of various pharmacological categories with benzodiazepine receptors // Mol. Pharmacol.— 1982.— **21**, N 3.— P. 320-328.
61. *Barbiturates* allosterically inhibit GABA antagonis and benzodiazepine inverse agonist binding / E. H. F. Vong, A. M. Snowunan, F. Leeb-Lundberg et al.// Eur. J. Pharmacol.— 1984.— **102**, N 2/3.— P. 205—212.
62. *Pat. 447188 Schweiz., IC³ CO7d 53/06.* Verfahren zur Herstellung von Benzodiazepine-Derivaten / C A. Archer, R. I. Fryer.— Publ. 29.03.68.
63. *1,4-Бенздиазепины,* их циклические гомологи и аналоги. 21. Об электрохимическом синтезе и некоторых свойствах 7-хлор-1, 2,3,4-тетрагидро-5Н-*1,4*-бенздиазепин-2-она / С. А. Андронати, А. В. Богатский, В. П. Гультяй и др.// Физиологически актив. вещества.— 1975.— Вып. 7.— С. 65—78.
64. *Borea P. A.* De novo analysis of receptor binding affinity data of benzodiaze-

pines // Arzneimittel-Forach. (Drug Res).— 1983.— 33(11), N 8.— P. 1086—1088.

65. *Фармакологические* свойства тетрагидро-феназепама (7-бром-5-(*о*-хлор)фенил-1,2,3,4-тетрагидро-2Н-1,4-бенздиазепин-2-он) / Н. Я. Головенко, О. П. Руденко, Т. П. Карасева и др.— Деп. в ВИНИТИ, № 1805—83 Деп.— РЖХим.— 1983.— № 7.—7Я83.
66. *Головенко Н. Я., Созинов В. А., Руденко О. П.* Распределение ^{14}C-гидрированного аналога в некоторых органах и тканях мышей // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1986.— № 3.— С. 327—329.
67. *Дегидрирование* тетрагидро-1,4-бенздиазепин-2-она в организме белых крыс / Н. Я. Головенко, А. В. Богатский, Г. Ю. Коломейченко и др. // Докл. АН СССР.— 1978.— **238**, № 4.— С. 977—980.
68. *1,4-Бенздиазепины* и их производные. 4. О зависимости между химическим строением и фармакологической активностью в ряду замещенных производных 1,4-бенздиазепина / Ю. И. Вихляев, Т. А. Клыгуль, А. В. Богатский и др.// Физиологически актив. вещества.— 1971.— Вып. 3.— С. 265—279.
69. *Структура,* фармакологические свойства и аффинность к бензодиазепиновым рецепторам 1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов и их циклических гомологов / С. А. Андронати, В. М. Чепелев, Т. А. Воронина и др.// Хим.-фармацевт. журн.— 1985.— № 5.— С. 535—539.
70. *1,4-Бенздиазепины,* их циклические гомологи и аналоги. 13. Структура и фармакологические свойства некоторых производных 1,6-бенздиазонина / Ю. И. Вихляев, А. В. Богатский, Т. А. Клыгуль и др.// Физиологически актив. вещества.— 1974.— Вып. 6.— С. 94—98.

Глава 4

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ЦЕНТРАЛЬНЫХ И ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ БЕНЗДИАЗЕПИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ

Данная глава посвящена сравнительному изучению регуляции центральных и периферических мест связывания БД (ПБДР). Механизмы регуляции последних заслуживают бóльшего внимания, чем им обычно уделяют, и мы надеемся, что настоящей работой нам удастся хоть в какой-то степени скомпенсировать этот недостаток и привлечь внимание ученых к проблемам исследования ПБДР.

4.1. Периферические бензодиазепиновые рецепторы

Вскоре после открытия БДР в ЦНС специфические высокоаффинные БДР были также описаны в таких периферических органах, как почки, сердце, печень, скелетные мышцы, легкие и др. (табл. 4.1). Выяснилось, что ПБДР отличаются от рецепторов центрального типа по ряду биохимических и фармакологических свойств. Некоторые лиганды БД-рецепторов более селективно связываются с ПБДР, чем другие: аффинность ПБДР к клоназепаму в 10 тыс. раз ниже, а к Ro 5—4864 — в 10 тыс. раз выше, чем у БДР центрального типа [4]. В табл. 4.2. приводятся сведения об ингибировании бензодиазепинами связывания ^{3}H-флюнитразепама с указанием концентрации полумаксимального ингибирования в почках. Из этих данных следует, что меченные тритием диазепам и флюнитразепам также можно использовать в качестве лигандов для характеристики ПБДР. БД-рецепторы центрального типа вне ЦНС не обнаружены, а ПБДР присутствуют в ЦНС. С помощью специфического лиганда ПБДР ^{3}H-Ro 5—4864 показано, что плотность ПБДР в переднем мозгу крысы достигает 245 фмоль/мг белка и составляет 20 % связывания ^{3}H-флюнитразепама [5]. ПБДР существуют во многих экстранейрональных структурах мозга и обладают иным распределением, чем центральные бензодиазепиновые рецепторы. Места связывания ^{3}H-Ro 5—4864 локализуются на ядерных мембранах клеток, а мозгоспецифические места БДР накапливаются в синаптосомальной фракции [5]. Экстранейрональную сущность ПБДР доказывает и тот факт, что агонисты рецепторов ГАМК$_A$ не влияют на связывание ^{3}H-Ro 5—4864 [6]. На экстранейрональное происхождение ПДБР указывают и данные о том, что после интрастриального введения каи-

Таблица 4.1. **Связывание ^{3}H-Ro 5—4864 в разных структурах мозга и периферических органах крысы**

Объект	$K_Д$, нмоль	B_{max}, фмоль/мг белка	Литература
Мозг			
Кора	2,2±0,2	184±26	[1]
Стриатум	2,6±0,7	223±8	[1]
Гиппокамп	2,8±0,2	294±47	[1]
Гипоталамус	2,6±1,0	303±13	[1]
Диафрагма	3,4±1,0	780±19	[2]
Почки	3,8±0,5	8420±1022	[1]
Сердце	5,4±1,4	4420±463	[1]
Легкие	4,6	4669	[3]
Надпочечники	5,3±0,6	35 397±4010	[1]
Тромбоциты	3,3±0,4	9425±862	[1]

Таблица 4.2. **Ингибирование связывания ^{3}H-флюнитразепама (1 нмоль) в почках крысы разными лигандами бенздиазепиновых рецепторов [7]**

Вещество	IC_{50}, нМ	Вещество	IC_{50}, нМ
Ro 5—4864	2±1	Клоназепам	2500±30
Флюнитразепам	16±1	Флюразепам	4200±1500
Диазепам	19±2	Лоразепам	5100±1200
Клобазам	270±30	Нитразепам	5700±390
Дезметилдиазепам	1500±440	Ro 5—3663	13 000±500

новой кислоты, которая разрушает нейрональные структуры и вызывает умножение глиальных структур, наблюдалось 1000 %-ное увеличение мест связывания ^{3}H-Ro 5—4864 [8].

Несмотря на то что ПБДР в мозге, по-видимому, больше связаны не с нейрональными структурами, специфические лиганды этих мест связывания обладают определенной психотропной активностью. Ro 5—4864 в зависимости от дозы усиливает аудиогенные судороги, а РК-11195 — другой лиганд ПБДР — антагонизирует этот эффект [9]. Кроме проконвульсивного (потенцирование пикротоксиновых судорог) и конвульсивного (в высоких дозах Ro 5—4864 сам вызывает судороги) действия Ro 5—4864 оказывает седативное и анксиогенное действия [10]. Однако поведенческие эффекты этого соединения не связаны с его влиянием на ПБДР в ЦНС, а обусловлены, скорее, взаимодействием с местами связывания пикротоксина или низкоаффинными (микромолярными) БДР [11]. В ходе эволюционного процесса ПБДР по сравнению с центральными БДР появляются относительно поздно: у рыб, лягушек и голубей в сердце ПБДР практически отсутствуют, составляя всего 2 % таковых у млекопитающих [12].

ПБДР в почках. Поскольку в почках ПБДР найдены в относительно больших количествах (см. табл. 4.1), возникает вопрос о влиянии бенздиазепиновых транквилизаторов на функции почек.

Согласно литературным данным, диазепам (БД-транквилизатор), влияющий на ПБДР больше чем другие препараты этого ряда, либо не влияет вообще, либо только умеренно повышает выделение мочи [13]. Диазепам также не влияет на содержание электролитов в сыворотке крови [14]. Таким образом, клинические наблюдения не дают основания судить о физиологической роли ПБДР в почках.

Интересными являются данные, согласно которым при аргинин-вазопрессиндефицитном диабете максимальное связывание ^{3}H-диазепама с мембранами почек возрастает и нормализуется после введения крысам этого пептида, что указывает на возможное участие ПБДР в механизме действия вазопрессина на почки [15]. Изменения связывания ^{3}H-флюнитразепама найдены с ПБДР в почках, а также при экспериментальной гипертонии (дезоксикортикостерон ацетат + NaCl) у крыс. Установлено, что последняя повышает количество мест связывания в почках, но не в коре головного мозга [7]. Важно отметить, что в почках ПБДР преимущественно найдены в коре, где при Докса + NaCl-гипертонии и локализуются гистопатологические изменения. В связи с этим ПБДР могут играть определенную роль в патогенезе гипертонии или быть следствием гипертонии.

Недавно ПБДР в почках были солюбилизованы с помощью дигитонина. Они оказались стабильными и не отличались от связанных с мембранами [16]. Это дает возможным очищать почечные ПБДР и описывать их более подробно.

ПБДР в сердце. Физиологическая функция ПБДР в сердце отличается от таковой в почках. При гипертонии их число в почках меняется, а в сердце остается на прежнем уровне [7]. Диазепам оказывает определенное действие на функции сердца: повышает коронарный кровоток, понижает артериальное давление и частоту сердечных сокращений [17]. Кроме того, по данным некоторых исследователей, он оказывает антиаритмическое действие [18]. Этим свойством обладают и другие транквилизаторы БД-ряда. Однако их антиаритмическое действие не коррелируется с их влиянием на ПБДР, а, скорее, с их антиэпилептической активностью [18]. Несмотря на то что оба специфических лиганда для ПБДР Ro 5—4864 и РК-11195 связываются приблизительно одинаково с мембранами сердца (для Ro 5—4864 $K_Д = 3{,}18$ нмоль, $B_{max} = 1964$ фмоль/мг белка; для РК-11195 $K_Д = 1{,}41$ нмоль, $B_{max} = 2250$ фмоль/мг белка), фармакологически они отличаются друг от друга [19]. На сосочковых мышцах сердца морской свинки показано, что ПБДР могут быть фармакорецепторами. Ro 5—4864 и диазепам угнетали сократимость этих мышц in vitro [20]. Ro 15—1788, антагонист центральных мест связывания БД, не устранял эффекты Ro 5—4864 и диазепама, а ГАМК не влиял на них. Напротив, эти эффекты были полностью устранены предполагаемым антагонистом ПБДР — РК-11195 [20]. Интересными являются данные, согласно которым он защищает сердце от аритмии, вызванной ишемией [20]. Выдвинута гипотеза, что ПБДР могут быть связаны с кальциевыми канальцами [21]. Ro 5—4864, селективный лиганд для ПБДР, обладает способностью блокировать их. Ряд других бенздиазепинов оказывают такое же

действие в согласии с их активностью на ПБДР [22]. РК-11195 не только не антагонизирует блокирующее действие Ro 5—4864 на кальциевые канальцы, но также устраняет подобное действие классических антагонистов кальция [20]. По данным авторов [23], высокоаффинные ПБДР, несмотря на их интеракции с функционированием кальциевых антагонистов, не связаны непосредственно или аллостерически с кальциевыми канальцами сердца. Это дает основание заключить, что ПБДР и связывающие места для дигидропиридиновых кальциевых канальцев являются отдельными молекулами, распределение которых на субклеточном уровне одинаково [23].

ПБДР в эндокринной системе. БД-транквилизаторы способны влиять на секрецию гипофизарных гормонов. Многие БД-транквилизаторы понижают уровень пролактина в плазме крови, а также устраняют гиперпролактинемический эффект нейролептиков [24]. Известно, что диазепам противодействует стимулирующему влиянию *L*-ДОФА и апоморфина на высвобождение гормона роста [25]. Ауторадиографическими исследованиями показано, что ПБДР, меченные с помощью ^{3}H-Ro 5—4864, в гипофизе локализованы главным образом в задней доле, а центральные места связывания БД, меченные ^{3}H-Ro 15—1788, напротив, — в промежуточной доле [26]. Следовательно, оба типа БДР существуют в гипофизе. Доказано влияние ГАМК-ергической нейромедиаторной системы на гипофиз, и можно предполагать, что эффекты БД-транквилизаторов, хотя и частично, опосредуются на гипофиз через потенцирование ГАМК-ергической иннервации. Роль ПБДР в гипофизе остается невыясненной. Самая высокая плотность ПБДР отмечена в надпочечниках (см. табл. 4.1).

Молекулярная масса надпочечниковых солюбилизированных ПБДР, полученных с помощью дигитонина, составляет 215 000 ± ± 20 000 [27], что мало отличается от молекулярной массы центрального ГАМК-БД-рецепторного комплекса, лежащего в диапазоне 220 000—270 000 [4]. Следует отметить, что наряду с ПБДР в надпочечниках существуют и места связывания БД центрального типа, которые модулируют активность существующих в хромаффинных клетках надпочечников связанных с ГАМК хлорных канальцев [28]. Таким образом, анксиолитическое действие БД-транквилизаторов может быть обусловлено не только их влиянием на центральный ГАМК-БД-рецепторный ансамбль, но также и их прямым влиянием на надпочечники.

Известно [29], что БД-транквилизаторы противодействуют повышению кортикостероидов в плазме крови при стрессовых воздействиях. Пока не выяснено, связан ли этот эффект с влиянием этих препаратов на ПБДР. Надо лишь отметить, что такого рода действия оказывают многие БД независимо от их аффинности к ПБДР [30].

Эндогенные соединения, способные ингибировать связывание ПБДР. В настоящее время описаны многие эндогенные соединения с известной или неизвестной структурой, способные взаимодействовать с БД-рецепторами, но тем не менее вопрос об эндогенном

лиганде последних остается открытым. Следует отметить, что эти эндогенные вещества либо не реагируют, либо реагируют очень слабо с ПБДР [4]. Недавно появились работы, где показано, что многие периферические ткани содержат специфический эндогенный ингибитор связывания ^{3}H-Ro 5—4864, а не ^{3}H-диазепама [31]. Ингибиторы связывания с ПБДР найдены также в моче и плазме крови человека [32]. Однако из мочи выделены и эндогенные вещества с иной химической структурой, избирательно взаимодействующие с центральными БДР. Установлено, что моча крысы и человека содержит β-карболинподобный материал, содержание которого снижается после применения этанола [33]. Интересны данные о том, что в мозгу крысы и человека существует полипептид, вытесняющий меченные 1,4-бензодиазепины и β-карболины из их специфических мест связывания [34], который назван ингибитором связывания диазепама (DBI). В последующих исследованиях показано, что и его более мощный фрагмент — октадеканейропептид — обладает фармакологической активностью, что напоминает таковой β-карболинов [35]. По данным доктора Гуйдотти (личное сообщение), DBI найден также в почках.

4.2. Влияние агонистов ГАМК$_А$- и ГАМК$_Б$-рецепторов на центральные и периферические бензодиазепиновые рецепторы

Взаимодействие ГАМК$_А$-рецепторов с БД-рецепторами хорошо изучено. Известно, что ГАМК и агонисты ГАМК$_А$-рецепторов повышают специфическое связывание БД, увеличивая аффинность БДР, но не влияя при этом на количество связывающих мест [36]. Антагонист ГАМК$_А$-рецепторов бикукуллин существенно не влияет на аффинность БДР, но устраняет конкурентным образом действие агонистов ГАМК, что свидетельствует о рецепторной природе этого эффекта [37]. В противоположность ЦБДР в условиях in vivo ГАМК не воздействует на ПБДР [6].

Предложена концепция о существовании двух фармакологически разных типов рецепторов ГАМК как в центральной, так и периферической нервной системе [38]. Эти два типа ГАМК-рецепторов названы рецепторами ГАМК$_А$ и ГАМК$_Б$ [39]. Стереоспецифическим лигандом на ГАМК$_Б$-рецепторы служит (—) баклофен (β-*п*-хлорфенил-ГАМК), который практически не связывается с традиционными ГАМК$_А$-рецепторами. Напротив, некоторые аналоги ГАМК — 3-аминопропансульфоновая кислота (3-АПС) и изогувацин, а также антагонист ГАМК$_А$-рецепторов бикукуллин эффективно связываются с ГАМК$_А$-рецепторами, а не с ГАМК$_Б$-рецепторами [40]. Надо отметить, что связывание лигандов с ГАМК$_Б$-рецепторами возможно только в присутствии двухвалентных катионов, а при использовании ^{3}H-ГАМК для замещения на ГАМК$_А$-рецепторе в инкубационную среду добавляют бикукуллин или изогувацин [41, 42] (табл. 4.3).

В то время как взаимодействие ГАМК$_А$- и БД-рецепторов хорошо изучено, вопрос об интеракции ГАМК$_Б$- и БД-рецепторов остается малоизученным. Согласно результатам опытов, проведенных in

vitro, ГАМК$_Б$-рецепторы не связаны с БДР [39, 43]. Однако есть данные о том, что введение баклофена животным способно модулировать связывание БД [44], а Ro 15—1788 — специфический антагонист БДР — устраняет некоторые поведенческие эффекты баклофена [45]. Ранее нами было установлено, что фенибут (β-фенил-ГАМК) является также агонистом ГАМК$_Б$-рецепторов [46, 47], поведенческие эффекты которого бикукуллиннечувствительные [48]. Нами

Таблица 4.3. **Сравнительная характеристика ГАМК$_А$- и ГАМК$_Б$-Рецепторов [40]**

Объект сравнения	Рецепторы	
	ГАМК$_А$	ГАМК$_Б$
Агонисты		
Мусцимол	Агонист	Малоактивен
3-АПС	»	Не активен
Баклофен	Не активен	Агонист
Фенибут	» »	Слабый агонист
Антагонисты		
Бикукуллин	Антагонист	Не активен
Пикротоксин	» (неконкурентный)	» »
Ионная среда	Ca^{2+} независимый	Ca^{2+} зависимый
Обработка с Тритон X-100	Связывание увеличивается	Связывание уменьшается
Ионофор хлора	Связан	Не связан
Ионофор кальция	Не связан	Не связан (?)
БД-рецепторы	Взаимосвязь установлена	Взаимосвязь не установлена

проведено также сравнительное исследование влияния агонистов рецепторов ГАМК$_А$ и ГАМК$_Б$ на центральные ПБДР.

Влияние введения мусцимола и фенибута на связывание ^{3}Н-флюнитразепама. Опыты проводились на белых беспородных мышах с массой тела 20 г. БДР были меченные in vivo введением ^{3}Н-флюнитразепама, а связывание — последовательное in vitro. Методика опыта более подробно описана нами в работе [49]. Выяснилось, что введение мусцимола повышает в зависимости от дозы связывания ^{3}Н-флюнитразепама не только в переднем мозгу, но и в почках. Фенибут также увеличивает связывание ^{3}Н-флюнитразепама с мембранами гомогената переднего мозга и почек (табл. 4.4). Изменения, наблюдаемые в почках, превышали таковые в переднем мозгу. Это частично можно объяснить тем, что эти вещества могут накапливаться в почках в ходе их элиминации от организма, создавая в почках более высокую концентрацию, чем в мозгу. Не исключено также, что в живом биологическом организме происходит фармакокинетическая интеракция между радиолигандом и исследуемыми веществами. Использованная нами методика связывания ^{3}Н-флюнитразепама in vivo не позволяет точнее охарактеризовать специфические места

связывания БД (невозможно определить $K_Д$ и B_{max}). Поэтому далее нами исследовалось влияние введения агонистов ГАМК на связывание ^{3}H-флюнитразепама с ЦБДР и ПБДР у крыс.

Влияние введения мусцимола и баклофена на связывание ^{3}H-флюнитразепама. Опыты проводились на белых крысах-самцах линии Вистар массой 200—250 г. В этих опытах исследовалось связывание ^{3}H-флюнитразепама с мембранами гомогената коры головного мозга и почек крысы. Методика связывания ^{3}H-флюнитразепама in vitro нами описана ранее [50, 51]. В обеих структурах были выявлены специфические места связывания для этого лиганда. Оказалось, что число периферических мест связывания в почках приблизительно в 2 раза выше, а аффинность приблизительно в 20 раз ниже, чем

Таблица 4.4. **Сравнительная характеристика влияния агонистов $ГАМК_А$ (мусцимола) и $ГАМК_Б$ (фенибута) на связывание ^{3}H-флюнитразепама in vivo в переднем мозгу и почках мышей** *

Вещество	Доза, мг/кг	Количество мышей	Специфическое связывание, число импульсов на 100 мг ткани	
			Передний мозг	Почки
Физиологический раствор	—	6	1342±89	2654±112
Мусцимол	0,75	4	1512±189	3391±234 ***
»	1,50	5	2174±214 **	5467±281 **
Фенибут	25,00	5	2127±158 **	4589±311 **
»	100,00	5	2973±306 **	8221±608 **

* ^{3}H-флюнитразепам (50 мкКи/кг) вводили подкожно за 30 мин до опыта. Специфическое связывание определялось у каждого животного индивидуально.
** $P < 0,01$ по сравнению с контролем.
*** $P < 0,05$.

Таблица 4.5. **Сравнительная характеристика агонистов рецепторов $ГАМКА_А$ (мусцимола) и $ГАМК_Б$ (баклофена) на связывание ^{3}H-флюнитразепама в гомогенате коры головного мозга и почек крысы** *

Вещество, доза, мг/кг	Связывание ^{3}H-флюнитразепама	
	B_{max}, фмоль/мг белка	$K_Д$, нмоль
Кора головного мозга		
Физиологический раствор	1240±60	1,81±0,09
Мусцимол 1,5	1180±120	1,07±0,10 **
(—) Баклофен 5	918±85 **	1,12±0,08 **
(+) Баклофен 5	1110±90	1,29±0,18
Почки		
Физиологический раствор	2420±120	24,5±1,5
Мусцимол 1,5	1995±210	17,2±1,7 **
(—) Баклофен 5	1490±150 **	12,8±2,8 **
(+) Баклофен 5	2030±180	15,9±2,1 **

* Вещества вводили в/б: мусцимол за 65 мин, а (—) и (+) баклофен — за 50 мин до опыта.
** $P \leqslant 0,05$ по сравнению с контролем.

у центральных мест связывания в коре головного мозга. Эти данные совпадают с результатами предыдущих исследований (табл. 4.5) [52]. Предварительное введение мусцимола животным (1,5 мг/кг) достоверно повышало аффинность к лиганду не только в коре, но и в почках, однако при этом не изменяло существенно числа мест связывания. Подобный эффект действия мусцимола в опытах in vivo и in vitro на центральные БДР известен, но он полностью отсутствует в периферических тканях в условиях in vitro. Введение (—) баклофена (5 мг/кг) не только повышало аффинность центральных и периферических БДР к лиганду, но также достоверно понижало число связывающих мест в обеих исследуемых структурах. Несмотря на то что изменения связывания ^{3}H-флюнитразепама в коре и в почках после введения (+) баклофена (5 мг/кг) напоминали таковые под действием (—)баклофена (5 мг/кг), достоверное понижение константы диссоциации наблюдалось лишь в почках (см. табл. 4.5). Поскольку до сих пор на основании опытов in vitro существование связи между ГАМК$_Б$ и бензодиазепиновыми рецепторами отрицается [39], можно предполагать, что в указанных условиях ГАМК$_Б$-рецепторы участвуют в регуляции функциональной активности ГАМК-БД-рецепторного супрамолекулярного комплекса. Так как эффект (—) баклофена напоминает, с одной стороны, эффект мусцимола (повышение аффинности), а с другой — бикукуллин (понижение мест связывания), можно предполагать, что в условиях in vivo баклофен ведет себя как смешанный агонист-антагонист ГАМК$_А$-рецепторов. Косвенно это предположение подтверждается наблюдениями [53], согласно которым оба изомера в высоких концентрациях ($IC_{50} \approx 38$ мкМ) нестереоселективно связываются с низкоаффинными ГАМК$_А$-рецепторами. Этим можно объяснить и одинаковое влияние обоих стереоизомеров баклофена на БДР. В результате наших опытов показано, что после введения in vivo агонисты ГАМК$_А$- и ГАМК$_Б$-рецепторов одинаково модулируют функциональную активность ПБДР. Поскольку в почках наличия ГАМК-рецепторов не установлено, можно выдвинуть гипотезу, что агонисты ГАМК оказывают стресс-протективное действие, в результате которого изменяется содержание (высвобождение?) гипотетического эндогенного лиганда БДР.

Согласно имеющимся данным, при акутном эксперименте невозможно провести декапитацию животного, не вызывая стрессового воздействия [54]. Возможно, что предварительное введение агонистов ГАМК оказывает стресс-протективное действие и тем самым противодействует возникновению стрессовых изменений в БДР.

4.3. Зависимость поведенческого ответа на баклофен от функциональной активности бензодиазепиновых рецепторов

В ходе поведенческих опытов с баклофеном нами неоднократно отмечалось, что седативное действие умеренных доз (±) баклофена (3 мг/кг) колеблется в широких пределах. В каждом эксперименте у

части животных баклофен вызывает сильную заторможенность, а у других, наоборот,— умеренное возбуждение. Целью нашей работы было селектирование животных с помощью (—) баклофена, стереоселективного агониста ГАМК$_Б$-рецепторов, и анализ состояния БДР и поведения баклофенселектированных животных.

Опыты проводились на мышах-самцах массой 20—25 г. Для селектирования использовался фотоэлектрический актометр. В каждую клетку помещалось по одному животному. (—)Баклофен (1 мг/кг) вводили в/б за 15 мин до опыта, и в течение 30 мин регистрировалась двигательная активность мышей. В процессе опытов селектирование групп проводилось в одной клетке.

Таблица 4.6. **Результаты селектирования животных с помощью (—) баклофена в фотоэлектрическом актометре**

Группа животных	Количество животных	Число импульсов в актометре	%
Контроль	20	298±23	—
Целая группа	155	272±12	100
Нечувствительные	29	456±15 *	168
Умеренно чувствительные	106	248±9	91
Чувствительные	20	91±8 *	38

* $P < 0{,}01$ по сравнению с целой группой.

Поведенческие эффекты баклофенселектированных животных исследовались по методу «открытое поле». В нашей модификации использовалась разделенная на спектры ярко освещенная камера (30 × ×30 см) с восемью отверстиями на поле с присоединенной к ней темной камерой (8 × 8 см). Регистрировалось число пересеченных секторов, принюхиваний в отверстиях, вставаний и входов в темную камеру. Методика исследования сохранения памятного следа с помощью условного рефлекса пассивного избегания описана ранее [55]. Опыт связывания ^{3}Н-флюнитразепама проводился в гомогенатах структур мозга и почек спустя 14 дней после проведения селектирования. В отдельном эксперименте селектированных баклофеном животных тестировали диазепамом и оценивали их поведенческие ответы к диазепаму.

Результаты селектирования мышей с помощью баклофена. Селектирование животных ранее установленной предельной дозой (1 мг/кг) (—) баклофена позволяет разделить их на три группы: баклофенчувствительные, нечувствительные и умеренно чувствительные табл. (4.6). Найденные различия сохраняются между этими группами только в том случае, если они будут находиться в условиях вивария в одной клетке. При помещении селектированных групп в отдельные клетки различия между ними исчезают, т. е. вновь в каждой отдельной группе образуются баклофенчувствительные, нечувствительные и умеренно чувствительные животные. Неизменность популяции в клетках гарантирует сохранение найденных различий

как минимум в течение 20 дней. Надо отметить, что базальная моторная активность у баклофенселектированных животных за 3 дня до селектирования и спустя 3 дня после опыта одинаковая. Это дает основание утверждать, что селектирование животных происходит только по их ответу на действие баклофена.

Полученные данные свидетельствуют о том, что мышей можно селектировать по их ответу на седативное действие (—) баклофена. При этом, по-видимому, важной является иерархия, образующаяся в домашних клетках мышей. Можно предполагать, что различная

Таблица 4.7. **Поведенческая характеристика баклофенселектированных мышей спустя 10 дней после селектирования с помощью (—) баклофена (1 мкг/кг)**

Поведенческие эффекты	Баклофеннечувствительные	Баклофенчувствительные
	Актометр	
Число импульсов	239±25	249±32
	Открытое поле	
Пройденные сектора	19,7±2,7	7,3±1,2 **
Количество вставаний	6,0±1,5	0,6±0,2 **
Обнюхивание отверстий	20,1±2,0	8,3±1,8 **
Количество входов в темную камеру	3,7±0,6	1,6±0,2 *
	Тест УРПИ	
Латентный период до обучения (с)	37±7	41±6
Латентный период после обучения (с)	68±22	163±32 *

* $P < 0{,}05$.
** $P < 0{,}01$ по сравнению с баклофенчувствительной группой.

индивидуальная чувствительность мышей к (—) баклофену отражает разную степень активности нейрональных систем, участвующих в седативном действии баклофена. Возникает вопрос, участвуют ли ГАМК$_Б$-рецепторы в последнем? Показано, что только (—) изомер баклофена активен в поведенческих опытах и экспериментах по радиолигандному связыванию с ГАМК$_Б$-рецепторами [42], а поведенческие и нейрохимические эффекты баклофена нечувствительны к бикукуллину [56].

Согласно имеющимся данным, в ходе хронического введения фенибута, который также является агонистом ГАМК$_Б$-рецепторов, возникают толерантность к седативному действию этого препарата и перекрестная толерантность к действию баклофена в указанных опытах [8, 57]. Следовательно, седативное действие баклофена может быть связано с его действием на ГАМК$_Б$-рецепторы.

Сравнительная поведенческая характеристика баклофенчувствительных и баклофеннечувствительных животных. По тесту «открытое поле» баклофенчувствительные животные резко отличаются от баклофеннечувствительных. Первые являются сильно затормо-

женными по всем параметрам теста «открытое поле», но при этом их двигательная активность в актометре одинакова (табл. 4.7). Интересно отметить, что по тесту условной реакции пассивного избегания (УРПИ) только у них заметно улучшение памяти. При тех же условиях у неселектированных животных всегда происходит умеренное достоверное улучшение памяти.

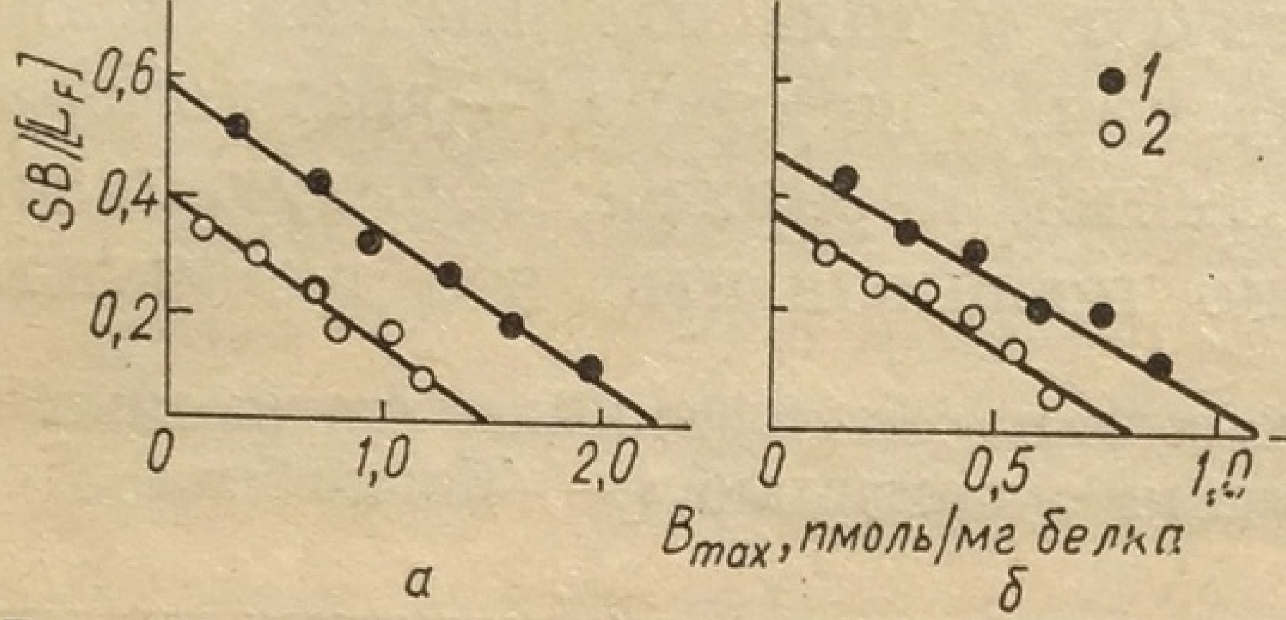


Рис. 4.1. Связывание ^{3}H-флюнитразепама (анализ Скетчарда) в гомогенате переднего мозга (*а*) и мозжечке (*б*) баклофенчувствительных (*1*) и баклофеннечувствительных (*2*) линий.

Установлено, что предельная доза диазепама, которая у неселективированных животных не подавляет локомоцию, способна угнетать двигательную активность только у баклофенчувствительных животных (рис. 4.1).

Сравнивая поведенческие эффекты баклофенселектированных животных можно предполагать, что у баклофенчувствительных мышей более выражены поведенческие эффекты, свойственные анксиогенным веществам. По тесту УРПИ наблюдалось улучшение памяти только у баклофенчувствительных животных. Этот эффект также напоминает таковой у анксиогенных лигандов БДР. Поскольку предполагается, что эндогенный лиганд БДР может обладать свойствами, характерными для β-карболинов [34], можно выдвинуть гипотезу о том, что у баклофенчувствительных животных содержание этого лиганда существенно выше, чем у баклофеннечувствительных. Косвенным подтверждением этой гипотезы служат и наши данные о состоянии БД-рецепторов у баклофенселектированных животных.

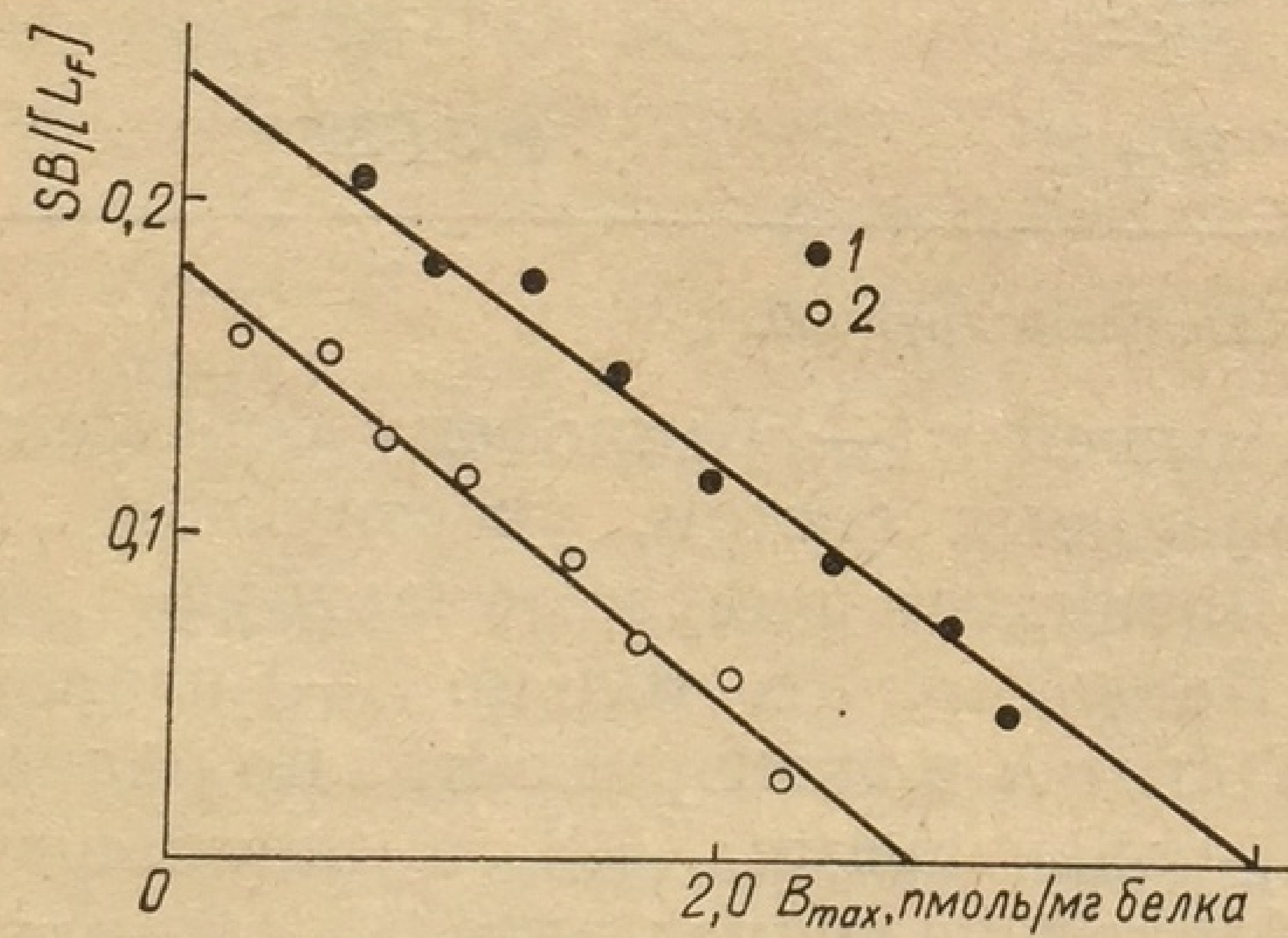


Рис. 4.2. Связывание ^{3}H-флюнитразепама (анализа Скетчарда) в гомогенатах почек у баклофенчувствительных (*1*) и баклофеннечувствительных (*2*) мышей

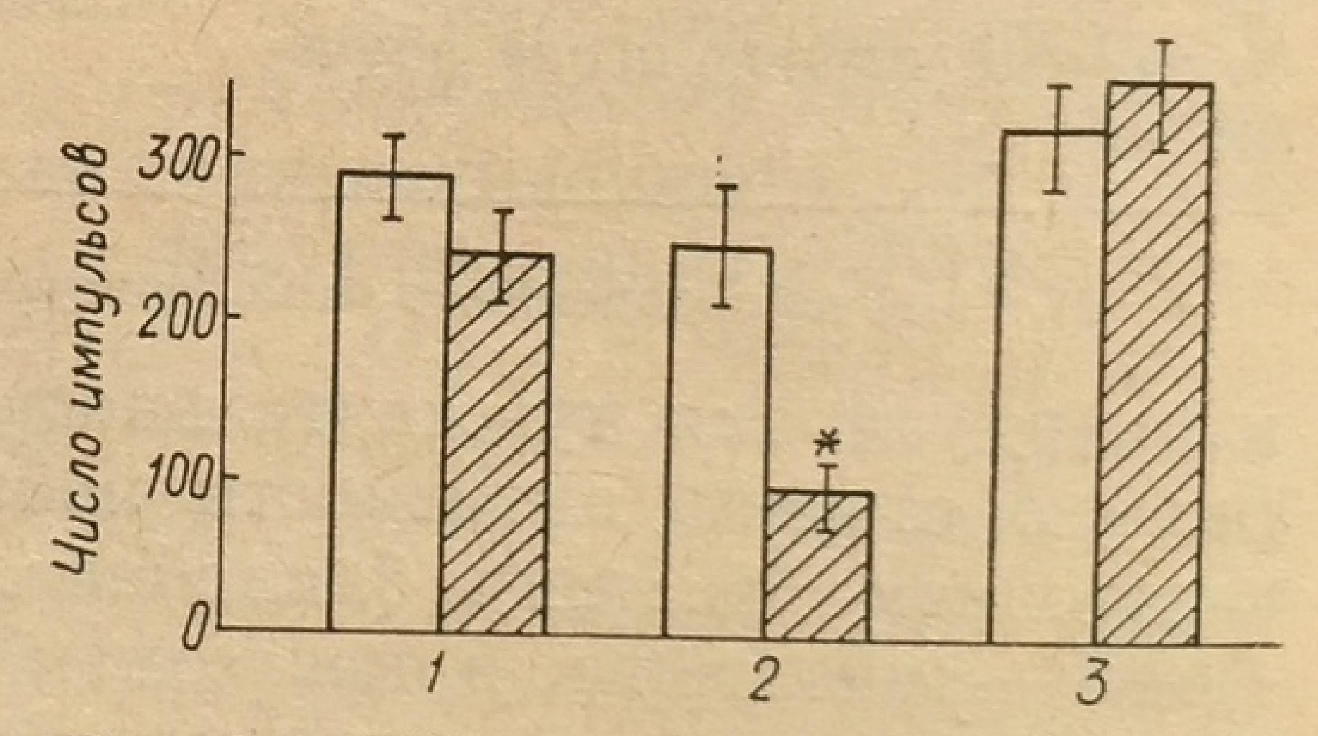


Рис. 4.3. Эффект диазепама (1,5 мг/кг) на двигательную активность баклофенселектированных и неселектированных мышей:

1 — неселектированные; *2* — баклофенчувствительные; *3* — баклофеннечувствительные животные; светлые столбики — контроль (физиологический раствор), заштрихованные — диазепам. (* $P < 0,05$ по сравнению с неселектированными; ** — $P < 0,005$ по сравнению с баклофеннечувствительными)

Связывание ^{3}H-флюнитразепама с БДР в ЦНС и почках у баклофенселектированных мышей. В опытах связывания с ^{3}H-флюнитразепамом показано, что у баклофенчувствительных мышей число мест связывания в гомогенатах переднего мозга и мозжечка меньше, чем у баклофеннечувствительных; аффинность при этом существенно

не изменяется (рис. 4.2). Такая же картина зарегистрирована в гомогенатах почек баклофенселектированных животных (рис. 4.3). Изменения в связывании ^{3}H-флюнитразепама с центральными и периферическими местами связывания оказались одинаковыми. Поскольку поведение животных, принадлежащих к баклофенчувствительным и -нечувствительным группам, различается, можно предполагать, что центральные БДР у этих животных отражают функциональное состояние ГАМК-бензодиазепинового рецепторного комплекса, участвующего в регуляции эмоционального поведения.

В наших экспериментах обнаружено, что поведение баклофенчувствительных животных в условиях открытого поля более заторможенное, что может свидетельствовать о наличии более сильной реакции страха у этих животных. Напомним, что у этих же животных количество связывающих мест ^{3}H-флюнитразепама было меньше. Это наблюдение совпадает с литературными данными, согласно которым у «эмоциональных» или «тревожных» линий мышей и крыс плотность ЦБДР ниже, чем у менее «эмоциональных» линий животных [58]. Нами установлено, что поведенческие эффекты предельных доз диазепама сильно выражены только у баклофенчувствительных животных.

Таким образом, баклофенчувствительные животные являются одновременно и диазепамчувствительными. Наши данные коррелируются с литературными, в которых показано, что у диазепамчувствительных животных наблюдается в некоторых структурах мозга понижение числа БДР [59].

Предполагаемое повышенное содержание эндогенного лиганда БДР у баклофенчувствительных животных может обусловливать пониженное содержание центральных и периферических БДР и высокую поведенческую эффективность диазепама у этих животных. В известной нам литературе не обнаружено данных о том, как связаны с эмоциональным поведением ПБДР, и найденные изменения ПБДР в почках трудно объяснить. Однако наши сведения об одинаковых изменениях связывания ^{3}H-флюнитразепама в мозгу и почках указывают на возможность существования единого механизма регуляции функциональной активности центральных и периферических мест связывания БД.

Определенный статус функциональной активности БДР — важное звено в реализации поведенческих эффектов баклофена. В случае, если ГАМК$_{Б}$-рецепторы действительно участвуют в последних, можно утверждать, что ГАМК$_{Б}$-рецепторы функционально связаны с БДР центрального и периферического типов.

4.4. Влияние стресса на центральные и периферические бензодиазепиновые рецепторы: стресс-протективное действие (—) баклофена

Известно, что стрессовые воздействия вызывают многие нейрохимические и гормональные сдвиги. Например, в ЦНС они изменяют синтез и высвобождение ряда нейромедиаторов, особенно норадре-

налина и серотонина [60]. Когда стрессовые воздействия становятся более интенсивными, начинает меняться и функциональная активность дофаминергической и холинергической систем. Однако в литературе относительно мало данных о влиянии стресса на центральные рецепторы нейромедиаторов.

Поскольку бенздиазепиновые транквилизаторы антагонизируют многим последствиям стресса (увеличение содержания стероидных гормонов, возникновение пептической язвы), изучение роли БДР в процессе его возникновения — важная задача нейрофармакологии.

Таблица 4.9. **Сравнительное связывание ^{3}H-флюнитразепама с неотмытыми мембранами коры головного мозга и почек у интактных и контактных крыс**

Подопытные животные	Связывание ^{3}H-флюнитразепама			
	B_{max}		$K_Д$	
	фмоль/мг белка	%	нмоль	%
Кора головного мозга				
Интактные	1110±60	100	1,26±0,13	100
Контактные	1150±80	104	1,49±0,19	118
Почки				
Интактные	2950±180	100	19,7±1,6	100
Контактные	2500±210	85	13,1±2,1 *	66

* Здесь и в табл. 4.10 и 4.11 $P < 0{,}05$ по сравнению с интактными.

Согласно работе [61], низкоаффинные места связывания ГАМК в ЦНС изменяются при стрессовых воздействиях. Некоторые стрессовые ситуации (например, короткое пребывание животного в холодной воде) вызывают в отдельных случаях ЦНС понижение количества мест связывания ^{3}H-флюнитразепама [62].

Начиная свои опыты, мы постарались выяснить, как влияет сама процедура декапитации животных на БДР, предполагая, что сама процедура декапитации может вызывать определенные изменения в БДР. Исследовались две группы крыс массой 220—280 г. Первая группа оставалась в условиях вивария, а вторую каждый день по 2 раза в течение 14 дней помещали в условия, максимально приближенные к предшествующему декапитированию. Животных, принадлежавших к первой группе, мы условно называли «интактными», а принадлежавших ко второй — «контактными». Так как в дальнейших опытах мы хотели использовать эти группы животных для выявления наличия стресс-протективного действия у (—) баклофена, за 45 мин до опыта всем животным ввели в/б физиологический раствор (1 мл/кг). Подобная методика моделирования (за исключением введения физиологического раствора или лекарств) острого стресса нашла применение и у других авторов [54].

Влияние стресса на центральные и периферические БДР. При сравнительном изучении связывания ^{3}H-флюнитразепама в гомо-

генате коры головного мозга и почек у интактных и контактных животных, выяснилось, что в гомогенате коры головного мозга у них не существует статистически достоверных различий. Однако в гомогенате почек наблюдалось достоверное повышение аффинности БДР у контактных крыс (табл. 4.9). В отмытых мембранах коры головного мозга, напротив, обнаружено достоверное понижение числа мест связывания и повышение аффинности БДР у контактных животных по сравнению с интактными (табл. 4.10). Интересно отметить, что

Таблица 4.10. **Сравнительное связывание ^{3}H-флюнитразепама с отмытыми мембранами коры головного мозга и почек у интактных и контактных крыс**

Подопытные животные	Связывание ^{3}H-флюнитразепама			
	B_{max}		$K_Д$	
	фмоль/мг белка	%	нмоль	%
Кора головного мозга				
Интактные	2108±135	100	2,12±0,08	100
Контактные	1594±112 *	76	1,75±0,11 *	83
Почки				
Интактные	5900±250	100	24,1±2,3	100
Контактные	5500±125	93	15,6±1,9 *	65

в почках после отмывки мембран (4 раза в *трис*-HCl-буфере) не произошло существенных изменений, т. е. в отмытых мембранах мы также наблюдали недостоверное уменьшение количества мест связывания и достоверное повышение аффинности БДР подобно центральным (табл. 4.10). Если учитывать, что у контактных животных максимально устранены стрессирующие факторы, то можно предполагать, что у этих животных стрессовый ответ практически отсутствует. У интактных животных, наоборот, возникает острый стрессовый ответ, который ведет к повышению числа связывающих мест и понижению аффинности. В наших условиях время стрессовых воздействий составило 60—75 мин (с момента, когда животных принесли из вивария, до декапитации). Надо учитывать также, что все подопытные животные получили инъекцию физиологического раствора. В литературе имеются данные о том, что после острого стресса (например, принужденное плавание в холодной воде) в коре головного мозга и гиппокампе число БДР сначала понижается, а затем, наоборот, в последнем повышается [62]. Учитывая важную роль гиппокампа в регуляции эмоционального поведения, мы дополнительно провели исследование БДР у интактных и контактных животных. Выяснилось, что в отмытых (4 раза в *трис*-HCl-буфере) мембранах мозжечка данные о связывании ^{3}H-флюнитразепама совпадают с таковыми, полученными о коре головного мозга (табл. 4.11). Однако в гиппокампе у контактных животных число БДР увеличилось на 79 %, а аффинность понизилась на 99 % по сравнению с тако-

вым у интактных. Согласно нашим данным, регуляция БДР в коре головного мозга, мозжечке и почках (но не в гиппокампе) под воздействием острого стресса происходит одинаково. В гомогенатах изучаемых структур мозга достоверных изменений в связывании ^{3}H-флюнитразепама не наблюдалось. Это можно объяснить тем, что в гомогенатах существуют какие-то модулирующие связывание ^{3}H-флюнитразепама эндогенные вещества (ГАМК, гипотетический эндогенный лиганд БДР или др.), которые при отмывке удаляются, или тем, что часть рецепторов солюбилизируется и также вымывается [63]. Разные результаты связывания ^{3}H-флюнитразепама с гомогенатами и отмытыми мембранами крыс с судорожными припадками получены и другими авторами [64]. Интересно отметить, что в почках изменение связывания ^{3}H-флюнитразепама не зависело от того, были мембраны отмытые или нет.

Таблица 4.11. **Сравнительное связывание ^{3}H-флюнитразепама с отмытыми мембранами гиппокампа и мозжечка у интактных и контактных крыс**

Подопытные животные	Связывание ^{3}H-флюнитразепама			
	B_{max}		$K_Д$	
	фмоль/мг белка	%	нмоль	%
Гиппокамп				
Интактные	1150±125	100	0,98±0,12	100
Контактные	2054±208 *	179	1,95±0,18	199 *
Мозжечок				
Интактные	786±52	100	2,51±0,12	100
Контактные	692±46	88	1,63±0,23	65 *

Влияние (—) баклофена на связывание ^{3}H-флюнитразепама у интактных и контактных животных: стресс-протективное действие (—) баклофена. Нами проведено сравнительное изучение влияния предварительного введения (—) баклофена (5 мг/кг) на связывание ^{3}H-флюнитразепама в отмытых мембранах коры головного мозга у интактных и контактных крыс. Установлено, что (—) баклофен у интактных животных понижает число связывающих мест ^{3}H-флюнитразепама и повышает аффинность у интактных, но существенно не влияет на связывание ^{3}H-флюнитразепама у контактных крыс (рис. 4.4). Данные об интактных крысах полностью коррелируются с нашими предыдущими результатами [65]. Важно отметить, что (—) баклофен устраняет изменения связывания ^{3}H-флюнитразепама у интактных крыс, т. е. после его введения связывание ^{3}H-флюнитразепама у интактных крыс не отличается от такового у контактных.

Таким образом, можно предполагать, что (—) баклофен оказывает, судя по ЦБДР, стресс-протективное действие. Поскольку ранее было показано влияние (—) баклофена и на ПБДР в почках, мы сравнили также действие (—) баклофена на связывание ^{3}H-флюнитразепама в почках у интактных и контактных крыс. Результаты этого

опыта продемонстрировали вновь одинаковое влияние (—) баклофена на связывание ^{3}H-флюнитразепама в почках с таковыми в ЦНС (рис. 4.5). В данном случае (—) баклофен также оказывал стресс-протективное действие на уровне ПБДР. Возникает вопрос: с чем же связано стресс-протективное (анксиолитическое?) действие (—) баклофена, селективного агониста ГАМК$_Б$-рецепторов? До сих пор убедительные данные о том, что баклофен оказывает анксиолитическое действие, отсутствуют [38]. Имеется лишь предположение, что в результате антагонизма между баклофеном и фенилэтиламином первый может проявлять некоторые свойства транквилизатора [66].

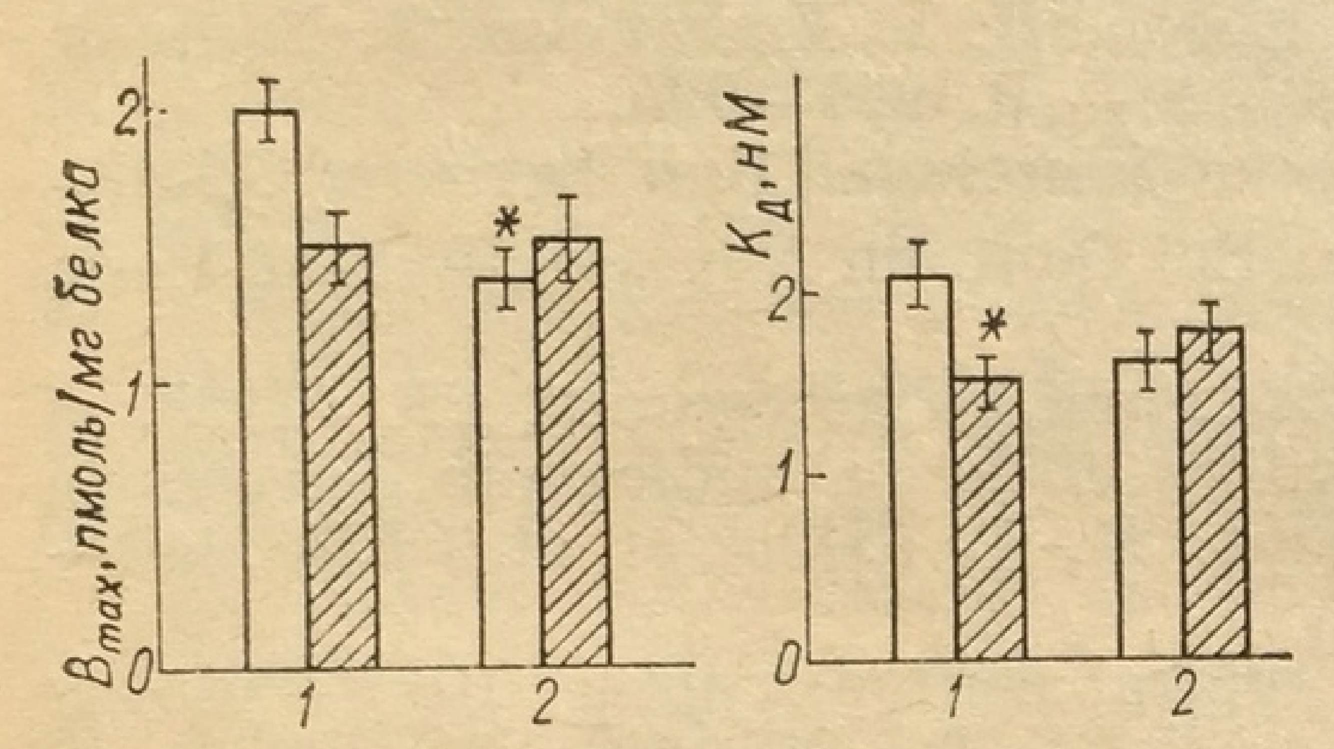


Рис. 4.4. Влияние (—) баклофена на связывание ^{3}H-флюнитразепама с отмытыми мембранами коры головного мозга у интактных и контактных животных: стресс-протективное действие (—) баклофена:

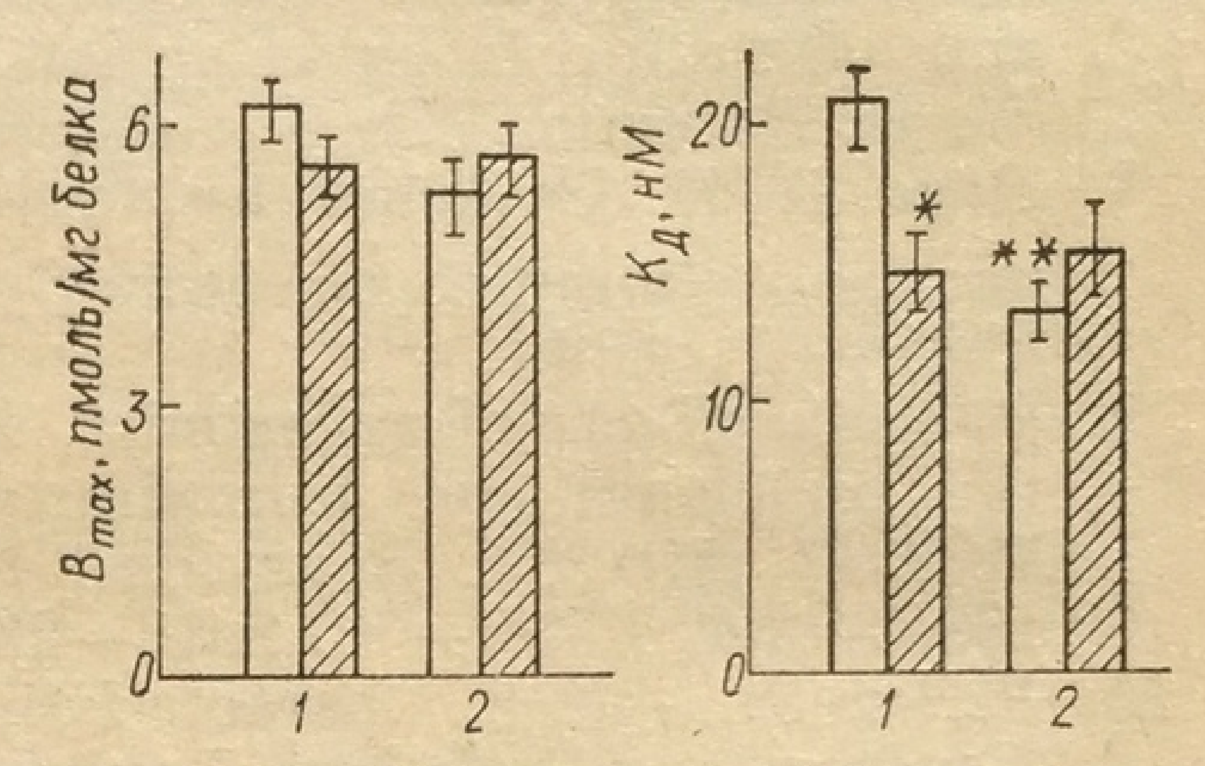


Рис. 4.5. Влияние (—) баклофена на связывание ^{3}H-флюнитразепама с отмытыми мембранами почек у интактных и контактных животных.

1 — интактные животные; *2* — контактные животные; заштрихованные столбики — животные, принадлежащие к обеим подопытным группам, которым предварительно ввели (—) баклофен (5 мг/кг). (* — $P < 0{,}05$, ** — $P < 1{,}01$ по сравнению с контролем)

Целью наших исследований ПБДР было выяснение существующих закономерностей регуляции их по сравнению с ЦБДР. Нами установлено, что ПБДР являются чувствительными маркерами ЦБДР при фармакологических воздействиях, стрессовых ситуациях или физиологических различиях. Показано, что ПБДР существуют на таких клетках крови, как тромбоциты, лимфоциты и моноциты [1]. Знание закономерностей регуляции центральных и периферических БДР дает возможность исследовать клетки крови у больных, чтобы получить косвенным путем сведения о функциональной активности ЦБДР. Результаты наших опытов указывают на необходимость более системного подхода к изучению БДР. Возможно, что в организме высших млекопитающих имеется своеобразная, может быть, в какой-то степени единая «система бендиазепинов», которая участвует в регуляции эмоционального поведения и сохранении гуморального гомеостаза при стрессовых воздействиях.

1. *Peripheral* benzodiazepine binding site: effect of PK 11195, 1-(2-chlorophenyl)-N-methyl-N-(1-methylpropyl)-3-isoquinolinecarboxamide. 1. In vitro studies / G. Le Fur, M. L. Perrier, N. Vaucher et al. // Life Sci. 1983.— **32**, N 16.— P. 1839—1847.
2. *Müller W. E., Ickstadt A., Hopf H. Ch.* Peripheral benzodiazepine binding sites on striated muscles of the rat: properties and effect of denervation // J. Neural Transm.— 1985.— **61**, N 1.— P. 35—42.

3. *Properties* of benzodiazepine binding sites in peripheral tissues / M. Del Zompo, A. Bocchetta, G. U. Corsini et al.// Benzodiazepine Recognitio Site Ligands: Biochemistry and Pharmacology.— New York : Raven press, 1983.— P. 239—248.
4. *Корнеев А. Я., Лидеман Г. Р.* Бенздиазепиновые рецепторы и постсинаптические ГАМК-рецепторы: свойства и взаимодействие // Успехи совр. биологии.— 1985.— **100**, вып. 1/4.— С. 51—67.
5. *Characterization* of peripheral type benzodiazepine binding sites in brain using ^{3}H-Ro 5—4864 / P. J. Marangos, J. Patel, J.-P. Beulenger, R. Clark-Rosenberg // Mol. Pharmacol.— 1982.— **22**, N 1.— P. 26—32.
6. *Patel J., Marangos P. J.* Differential effects of GABA on peripheral and central type benzodiazepine binding sites in brain // Neurosci. Lett.— 1982.— **30**, N 2.— P. 157—160.
7. *High* affinity renal ^{3}H-flunitrazepam binding: characterization, localization and alteration in hypertension / J. W. Regan, H. I. Yamamura, S. Yamada, W. R. Roeske // Life Sci.— 1980.— **28**, N 9.— P. 991—998.
8. *Rägo L. K.* Evidence for the existence of functional link between $GABA_B$ and benzodiazepine receptors // 4th Capo Boi Conf. on Neurosci.— New York, 1985.— P. 209.
9. *Opposite* effects of an agonist, Ro 5—4864, and an antagonist, PK 11195, of the peripheral-type benzodiazepine binding sites on audiogenic seizures in DBA/2J mice / J. Benavides, F. Guilloux, D.-E. Allam et al.// Life Sci.— 1984.— **34**, N 26.— P. 2613—2620.
10. *Pellow S., File S.* Characteristics of an typical benzodiazepine, Ro 5—4864 // Neurosci. and Biobehav. Rev.— 1984.— **8**, N 3.— P. 405—413.
11. *Pellow S., File S.* Minireview behavioral actions of Ro 5—4864: a peripheral-type benzodiazepine?// Life Sci.— 1984.— **35**, N 2.— P. 229—240.
12. *Late* evolutionary appearance of «peripheral-type» binding sites for benzodiazepines / G. Bolger, B. A. Wissman, H. Leuddens et al.// Brain Res.— 1985.— **338**, N 3.— P. 366—370.
13. *Zamboni R., Renna G., Cortese I.* Effetto delle benzodiazepine sulla sete e sulla diuresi del ratto // Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.— 1972.— **48/21**, N 8.— P. 711—713.
14. *Cahn B.* Electrolyte and hormonal balance in human subjects following diazepam administration // Curr. Ther. Res.— 1966.— **8/5**, N 5.— P. 256—260.
15. *Peripheral* benzodiazepine binding sites in kidney: modifications by diabetes insipidus / M. Del Zompo, J. M. Saavedra, J. Chevillard et al.// Life Sci.— 1984.— **35**, N 20.— P. 2095—2103.
16. *Gavish M., Fares F.* Solubilization of peripheral benzodiazepine binding sites from rat kidney // J. Neurosci.— 1985.— **5**, N 11.— P. 2889—2893.
17. *Haefely W., Pieri L., Polc P., Schaffner R.* General pharmacology and neuropharmacology of benzodiazepine derivatives // Handb. exp. Pharmacol.— 1981.— **55/11**, N 1.— P. 24—25.
18. *Kuruvilla A., Stephen P. M.* Study of antiarrhytmic effects of some centrally acting drugs — benzodiazepines // Indian J. Exp. Biol.— 1983.— **21**, N 1.— P. 23—26.
19. *Peripheral* benzodiazepine binding sites: effect of PK 11195, 1-(2-chlorphenyl)-N-methyl-1(1-methylpropyl)-3 isoduinolinecarboxamide. 2. In vivo studies / G. Le Fur, F. Guilloux, P. Rufat et al.// Life Sci.— 1983.— **32**, N 16.— P. 1849—1856.
20. *Electrophysiological* and pharmacological characterization of peripheral benzodiazepine receptors in a guinea pig heart preparation / M. Mestre, T. Carriot, C. Belin et al.// Ibid.— 1984.— **35**, N 9.— P. 953.
21. *Electrophysiological* and pharmacological evidence that peripheral type benzodiazepine receptors are coupled to calcium channels in the heart / M. Mestre, T. Carriot. C. Belin et al.// Ibid.— **36**, N 4.— P. 391—400.
22. *Taft W. C., De Lorenzo R. J.* Micromolar-affinity benzodiazepine receptors regulate voltage-sensitive calcium channels in nerve terminal preparations // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1984.— **81**, N 10.— P. 3118.
23. *Holck M., Osterrieder W.* The peripheral, high affinity benzodiazepine binding site is not coupled to the cardiac Ca^{2+} channel // Eur. J. Pharmacol.— 1985.— **118**, N 2.— P. 293—301.

24. *Neuroleptic-induced* prolactin rise: influence of pharmacological alterations of different neurotransmitter systems / T. Chieli, D. Cocchi, G. B. Fregnan et al.// Experientia.— 1980.— 36, N 4.— P. 463—465.
25. *Koulu M., Lammintausta R., Dahlström S.* Effects of some γ-aminobutyric acid (GABA)-ergic drugs on the dopaminergic control of human growth hormone secretion // J. Clin. Endocrin. and Metabol.— 1980.— **51**, N 1.— P. 124—129.
26. *Brown C., Martin I. L.* Autoradiographic localization of benzodiazepine receptors in the rat pituitary gland // Eur. J. Pharmacol.—1984.— **102**, N 5/6.— P. 563—564.
27. *Characterization* of solubilized «pheripheral-type» benzodiazepine binding sites from rat adrenals by using [^{3}H] PK 11195, an isoquinoline carboxamide derivative / J. Benavides, J. Menager, M. C. Burgevik et al.// Biochem. Pharmacol.— 1984.— 34, N 1.— P. 167—170.
28. *Bormann J., Claphman E.* γ-Aminobutyric acid receptor channels in adrenal chromaffin cells: a patch-clamp study // Proc. Nath. Acad. Sci. USA.— 1985.— **82**, N 4.— P. 2168—2172.
29. *Relationship* between plasma corticosteroids and benzodiazepines in stress / G. Le Fur, F. Guilloux, N. Mitrani et al.// J. Pharmacol. and Exp. Ther.— 1979.— **211**, N 2.— P. 305—308.
30. *Lahti R. A., Barsuhn C.* The effect of various doses of minor tranquilizers on plasma corticosteroids in stressed rats // Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.— 1975.— **11**, N 5.— P. 595—603.
31. *Endogenous* inhibitors of 4'-^{3}H-chlorodiazepam (Ro 5—4864) binding to «peripheral» sites for benzodiazepines / C. R. Mantione, B. A. Weissman, M. E. Golman et al.// FEBS Lett.— 1984.— **176**, N 1.— P. 69—71.
32. *Inhibitors* of peripheral-type benzodiazepine receptors present in human urine and plasma ultrafiltrates / K. Beaumont, A. K. Cheing, M. L. Geller et al.// Life Sci.— 1983.— **33**, N 14.— P. 1375—1384.
33. *Volicer L., Ullman M. D.* Inhibition of benzodiazepine receptor binding by urinary extracts: effect of ethanol // Alcoholism: Clin. and Exp. Res.— 1985.— 9, N 5.— P. 407—410.
34. *Isolation*, characterization and purification to homogeneity of an endogenous polypeptide with agonistic action on benzodiazepine receptors / A. Guidotti, C. M. Forchetti, M. G. Corda et al.// Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1983.— **80**, N 7.— P. 3531—3535.
35. *Study* of an octadecaneuropeptide derived from diazepam binding inhibitor (DBI): biological activity and presence in rat brain / P. Ferrero, M. R. Santi, B. Conti-Tronconti et al.// Ibid.— 1986.— **83**, N 2.— P. 827—831.
36. The effect γ-aminobutyric acid on ^{3}H-flunitrazepam binding in rat brain / G. J. Wastek, R. C. Speth, T. D. Reisine et al.// Eur. J. Pharmacol.— 1978.— **50**, N 4.— P. 445—447.
37. *Tallman J. F., Thomas J. W., Gallager D. W.* GABA-ergic modulation of benzodiazepine binding site sensitivity // Nature.— 1978.— **274**, N 5671.— P. 384—385.
38. *Bowery N. G.* Baclofen: 10 years on // Trends Pharmacol. Sci.— 1982.— 3, N 10.— P. 400—403.
39. *Heterogeneity* of mammalian GABA receptors / N. G. Bowery, D. R. Hill, A. L. Hudson et al.// Actions of GABA and benzodiazepines.— New York: Raven press, 1984.— P. 81—108.
40. *Simmonds M. A.* Multiple GABA receptors and associated regulatory sites // Trends in Neurosci.— 1983.— 6, N 6.— P. 279—281.
41. *Ряго Л. К., Нурк А. М., Саре Х. А.* Характеристика рецепторов $\text{ГАМК}_{\text{Б}}$ // Учен. зап. Тарт. ун-та. Тр. по медицине.— 1984.— № 687.— С. 17—27.
42. *Bowery N. G., Hill D. R., Hudson A. L.* ^{3}H-GABA and ^{3}H-baclofen are ligands for the same bicuculline-insensitive site on mammalian CNS synaptic membranes // Brit. J. Pharmacol.— 1981.— **74**, N 1.— P. 222—223.
43. *Majewska M. D., Chuang D.-M.* Modulation by calcium of γ-aminobutyric acid (GABA) binding to $\text{GABA}_{\text{Б}}$ and GABA_{A} recognition sites in rat brain // Mol. Pharmacol.— 1984.— **25**, N 3.— P. 352—359.

44. *Gallager D. W., Thomas J. W., Tallman J. E.* Effect of GABA-ergic drugs on benzodiazepine binding site sensitivity in rat cerebral cortex // Biochem. Pharmacol.— 1978.— **27**, N 23.— P. 2745—2749.
45. *Allikmets L. H., Rägo L. K.* The action of benzodiazepine antagonist Ro 15—1788 on the effects of GABA-ergic drugs // Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol.— 1983.— **324**, N 3.— P. 235—237.
46. *Ряго Л. К., Нурк А. М., Алликметс Л. Х.* Влияние фенибута на ГАМК-бенздиазепиновый рецепторный комплекс // Учен. зап. Тарт. ун-та. Тр. по медицине.— 1984.— № 687.— С. 28—33.
47. *О связывании* фенибута с бикукуллиннечувствительными рецепторами ГАМК в мозге крыс / Л. К. Ряго, А. М. Нурк, А. Я. Корнеев, А. Х. Алликметс // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1982.— № 11.— С. 58—59.
48. *Алликметс Л. Х., Ряго Л. К., Нурк А. М.* Влияние блокатора ГАМК-рецепторов бикукуллина на эффекты фенибута и диазепама // Там же.— № 5.— С. 65—66.
49. *Benzodiazepine* binding sites in mice forebrain and kidneys: evidence for similar regulation by GABA agonists / L. K. Rägo, R. K. Kiivet, J. E. Harro, L. H. Allikmets // Pharm. Biochem. and Behav.— 1986.— **24**, N 1. — P. 1—3.
50. *Ряго Л. К., Кийвет Р. К., Харро Я. Э.* Возможность одинаковой регуляции периферических и центральных мест связывания бензодиазепинов у мышей // Всесоюз. симпоз. «Химия, фармакология и клиника нейролептиков».— Тарту : Б. и., 1986.— С. 104—106.
51. *Rägo L. K., Kiivet R. K., Harro J. E.* Variation in behavioral response to baclofen: correlation with benzodiazepine binding sites in mouse forebrain // Naunyn-Schmiedebergs Arch.— Pharmacology.— 1986.— **333**, N 4.— P. 303—306.
52. *Taniguchi T., Wang J. K. T., Spector S.* [^{3}H] Diazepam binding sites on rat heart and kidney // Biochem. Pharmacol.— 1982.— **31**, N 4.— P. 589—590.
53. *Waddington J. L., Cross A. I.* Baclofen and muscimol: behavioural and neurochemical sequelae of unilateral intranigral administration and effects on ^{3}H-GABA-receptor binding // Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. — 1979.— **306**, N 3.— P. 275—280.
54. *Biggio G.* The action of stress, β-carbolines, diazepam and Ro 15—1788 on GABA receptors in the rat brain.// Benzodiazepine recognition site ligands: biochemistry and pharmacology.— New York : Raven press, 1983.— P. 105—119.
55. *Существование* функциональной связи между ГАМК$_Б$ и бензодиазепиновыми рецепторами / Л. К. Ряго, А. М. Нурк, Р. К. Кийвет и др.// Успехи медицинской науки.— Тарту : Б. и., 1986.— С. 40—42.
56. *Rägo L. K., Zarkovsky A. M.* Bicuculline-insensitive effects of baclofen // Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol.— 1983.— **322**, N 2.— P. 166—169.
57. *Ряго Л. К., Сарв Х. А., Алликметс Л. Х.* Влияние многодневного введения фенибута и диазепама на рецепторы ГАМК и бензодиазепинов в мозге мышей// Бюл. экспер. биологии и медицины.— 1983.— 96, № 12.— С. 49—50.
58. *Robertson H. A.* Benzodiazepine receptors in «emotional» and «non-emotional» mice: comporison of four strains // Eur. J. Pharmacol.— 1979.— **56**, N 1/2.— P. 163—166.
59. *Neurochemical* characteristics of rats distinguished as benzodiazepine responders and non-responders in a new conflict test / J. B. Patel, J. Stengel, J. B. Malik, J. B. Enna // Life Sci.— 1984.— **34**, N 26.— P. 2647—2653.
60. *Anisman H.* Neurochemical changes elicited by stress // Psychopharmacology of Aversively Motivated Behavior — New York : Plenum press, 1978.— P. 119—172.
61. Ethyl-β-carboline-3-carboxylate descreases [^{3}H] GABA binding in membrane preparations of rat cerebral cortex / A. Concas, M. Salis, M. Serra et al.// Eur. J. Pharmacol.— 1983.— **89**, N 1/2.— P. 179—181.
62. *Benzodiazepine* receptor in rat cerebral cortex hippocampus undergo rapid and reversible changes after acute stress / J. H. Medina, M. L. Novas, C. N. Wolman et al.// Neurosci.— 1983.— **9**, N2.— P. 331—335.
63. *Korneyev A. Y., Factor M. I.* Changes in the B_{max} and K_D for ^{3}H-flunitrazepam

observed in the course of warning rat brain tissue with distilled water // Mol. Pharmacol.— 1983.— **23**, N3.— P. 310—314.

64. *Niznik H. B., Burnham W. M., Kish S. J.* Benzodiazepine receptor binding follwing Amygdala-kindled convulsions: differing results in washed und unwashed brain membranes // J. Neuropharmacol.— 1984.— **43**, N 12B.— P. 1732—1736.

65. *Ряго Л. К., Кийвет Р. К., Пыльд М. А.* Влияние баклофена in vivo и in vitro на центральные места связывания бензодиазепинов // Всесоюз. симпоз. «Химия, фармакология и клиника нейролептиков».— Тарту : Б. и., 1986.— С. 102—104.

66. *Лапин И. П.* Фенибут и баклофен как антагонисты фенилетиламина // Учен. зап. Тарт. ун-та. Тр. по медицине.— 1984.— № 687.— С. 36—43.

67. *Potashner S. J.* Differential inhibition by baclifen of amino acid release from cerebral cortex slices // Brain Res.— 1980.— 5, suppl. 2.— P. 513—518.

68. *Carlen P. L., Gurevich N., Polc P.* Low-dose benzodiazepine neuronal inhibition: anhanced Ca^{2+} mediated K^{+}-conductance // Ibid.— 1983.— **271**, N 2.— P. 358—364.

69. *Kato K., Fukuda H.* The non-GABA-ergic nature of ^{3}H-baclofen binding in rat peripheral tissues // Gen. Pharmacol.— 1985.— **16**, N 3.— P. 327—333.

Глава 5

ЭФФЕКТОРНЫЙ АНАЛИЗ ПРИНЦИПОВ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ И КООПЕРАТИВНОСТИ СУБЪЕДИНИЦ ГАМК-БД-РЕЦЕПТОРНО-ИОНОФОРНОГО АНСАМБЛЯ

Исследования принципов функционирования ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля на основе эффекторного моделирования (основного метода экспериментальной фармакологии) недостаточно систематизированы. К ним можно отнести работы, объектом анализа которых является изменение функции хлорного канала (эффектора ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля) или показателей (выходных величин) биологических систем, обусловленных функцией хлорного канала в норме и патологии. В связи с этим систематизации и описанию в единой системе терминов формализации необходимо подвергнуть информацию, полученную в исследованиях биологических систем различного уровня организации [1—18], с различными соотношениями входных и выходных величин. Обобщение информации в указанной области во взаимосвязи с молекулярно-биологическими [19—24], биохимическими [7, 12, 25, 26] данными по изучению бенздиазепинового рецептора [9, 10, 27—45] и ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля [36, 44—51], их фармакологии в норме и патологии [57—65], фило- и онтогенезе [66—68] должно преследовать две принципиальные задачи: 1) получение углубленного знания о структуре ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля и законах его функционирования в условиях взаимодействия экзо- и эндогенных лигандов; 2) проекция указанной информации на область исследований по коррекции патологических состояний лигандами рецепторов с целью оптимизации их клинического изучения и использования.

В настоящей главе ввиду ограниченности ее объема и сферы научных интересов авторов фармакологические исследования структуры и функции ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля рассмотрены в плане решения первой задачи.

5.1. Основные фармакологические модели в исследованиях ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля

Некоторые особенности методов изучения ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля. Из особенностей экспериментальных фармакологических моделей, используемых для изучения принципов

функционирования ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля, можно отметить следующие.

1. Ограниченное развитие методических подходов в фармакологических исследованиях in vivo и in vitro. Указанная особенность обусловлена тем, что возможности фармакологических исследований на целостном организме значительно затруднены функцией гематоэнцефалического барьера, препятствующего количественным воздействиям некоторых входных величин. Это прежде всего относится к проникновению к биофазе действия экзогенной ГАМК-эндогенного лиганда рецепторно-ионофорного ансамбля и большинства ее синтетических аналогов [2,25]. Указанная трудность преодолевается различными путями: внутрижелудочковым введением и введением в спинномозговой канал [2,25], интрацеребральным введением в различные структуры головного мозга [2,6, 25], аппликацией исследуемых веществ на различные отделы коры головного мозга [7, 20, 25], а также исследованием функции ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля в условиях воздействия на систему биосинтеза — биодеградации эндогенной ГАМК [2, 10, 25, 69, 69—71].

В опытах in vitro существенным ограничением развития фармакологических экспериментальных моделей является отсутствие удобных для использования органов (тканей), отвечающих на входные воздействия ГАМК-зависимым механическим показателем (выходным). Исключение составляет стенка подвздошной кишки морских свинок [4,18].

2. Отсутствие завершенного, адекватного исследуемым биосистемам математического аппарата, недостаточное (зачастую качественное) описание результатов фармакологических исследований. Указанная особенность объясняется тем, что ГАМК-БД-рецепторно-ионофорный ансамбль реализует функциональное состояние посредством единственного эффектора (хлорного канала), что создает иллюзию возможности простого (одномерно-одномерного) описания его взаимодействия с лигандами [4,18]. В физиологических условиях ГАМК-БД-рецепторно-ионофорный ансамбль находится в состоянии функционального (хлорный канал [14, 18]) и конформационного (ГАМК-рецептор [14, 18], бензодиазепиновый рецептор [64]) равновесия. Его субъединицы от 8 до 1, по данным различных авторов, как минимум трех типов (ГАМК-рецептор, бензодиазепиновый рецептор, рецептор пикротоксина и (или) хлорный канал) взаимодействуют кооперативно [1, 36, 69]. В связи с этим ощутимы трудности в формальном описании их функции в терминах современной теории рецепторов и молекулярной фармакологии («агонист-антагонист», типы антагонизма и пр.). Наметились попытки введения новых понятий (сущностей), например: «обратный агонист» [10, 32, 36]. До сих пор нет однозначных терминов, а тем более математического описания взаимодействия для агонистов, обладающих противоположными фармакологическими эффектами (барбитураты — пикротоксин). Изыскание адекватного аппарата описания функции ГАМК-рецепторного комплекса успешно, но по частным вопросам осуществляется И. В. Комиссаровым с сотр. [69, 72—74], а также авторами настоящей главы.

Качественное описание результатов фармакологических экспериментов, в частности опытов in vivo [27, 47] и клинических исследований [21, 23, 75], — необходимый этап в систематизации наблюдающихся типов взаимодействия экзогенных лигандов с рецепторной системой, предшествующий функциональному описанию (взаимосвязи фармакокинетики и фармакодинамики [76]) и последующему структурно-функциональному анализу биосистем [65, 77].

Применительно к рассматриваемой медиаторной системе структуризация фармакологических данных, полученных в опытах in vivo (в частности, включение в параметры соответствующих моделей показателей, выводимых из результатов молекулярно-биологических исследований), практически не осуществлялась.

3. Значительное отставание теоретических изысканий от прикладных фармакологических разработок. Об этом свидетельствует включение в арсенал лекарственных средств бензодиазепинов, барбитуратов и других соединений задолго до выяснения механизма их действия.

В целом фармакологические исследования ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля осуществляются на различных уровнях организации биологических систем, при разнообразных схемах взаимодействия и находятся на стадии систематизации, выработки адекватного аппарата описания и представляют собой развивающийся раздел экспериментальной фармакологии.

Основные уровни организации биологических систем и схемы взаимодействия ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля. Перфузия изолированных органов — идеальная экспериментальная модель для изучения детерминированных биосистем [77]. Наиболее полно возможности использования перфузированных органов (тканей) в биологическом моделировании раскрылись и были реализованы в фармакологических исследованиях холин- и адренергических рецепторов — канальных ансамблей и серотонинчувствительной биохимической системы [72, 76]. Изыскания с использованием перфузированных органов выполнены на сократительных структурах (выходной показатель механический) при многомерных динамических, как правило, непрерывных (ступенчатых) входных химических (различные концентрации агонистов, модуляторов, состав ионной среды) воздействиях [72]. Результаты указанных исследований явились мощным стимулом и послужили основой формирования современного математического аппарата экспериментальной фармакологии [56] и теории рецепторов [56, 72]. Толчком к развитию современных представлений теории рецепторов послужили также работы в области структурно-функционального моделирования опиатных рецепторов [78], выполненных в основном на субклеточном уровне. Большинство работ по изучению принципов взаимодействия ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля и его модификаторов осуществлено биохимическими и молекулярно-биологическими методами [4, 11, 12, 14—17, 28—30, 33, 38, 46, 53, 60—65, 78]. Основные результаты исследований в данной области суммированы в соответствующих обзорах и монографиях (см. литературу, цитированную

во введении). Существенным достижением современной фармакологии явилось плодотворное использование меченных экзо- и эндогенных лигандов ГАМК- и опиатного рецепторов, не только в биохимических и молекулярно-биологических, но и гистохимических и гистологических исследованиях. Изучение внутриклеточного распределения ГАМК-рецепторов [45], распределения бендиазепиновых рецепторов различных типов [3, 9, 31, 34, 65] и ГАМК-рецепторов в различных отделах ЦНС [3, 9, 45] расширило возможности указанных методов, рассматриваемых ранее как исключительно структурные [77]. Исследования функции ГАМК-рецептора на клеточном и тканевом уровнях достаточно полно представлены в монографии [25]. В связи с этим остановимся только на методах анализа опытных данных в этой области.

ГАМК-БД-рецепторно-ионофорный ансамбль в норме и патологии. Ряд патологических состояний, таких как аффективные расстройства, пресинильная деменция, болезнь Паркинсона, хорея Гетингтона и другие, связаны с нарушением медиаторной функции ГАМК [25].

В результате некоторого опережения прикладными фармакологическими изысканиями структурно-функциональных исследований ГАМК-чувствительной медиаторной системы в скрининге психотропных соединений нашло успешное применение моделирование патологических состояний, взаимосвязанных с функцией ГАМК в организме [25, 70, 79, 80]. Моделирование патологических процессов осуществляется в нескольких основных направлениях:

избирательным воздействием на систему биосинтеза — биодеградации ГАМК [2, 5, 10, 60, 70];

воздействием на проводимость хлорного канала ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля [1, 7, 9, 25, 28, 35, 59, 60, 70, 79—89, 91, 92];

моделированием судорожных состояний (максимальный электропорошок [1, 2, 70]), а также рядом специальных нейрофармакологических (нейрофизиологических) моделей [2, 25, 70];

изучением поведенческих реакций в условиях конфликтной ситуации [70] и эмоционального стресса [32, 47, 53, 70].

Оценка динамичности воздействий, их управляемости и адекватности определенным патологическим процессам — сфера компетенции и объект изысканий в современном фармакологическом скрининге [25, 70, 80].

Указанные методические подходы стали одним из основных инструментов в изучении функции ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля in vivo [32, 37, 44, 47, 53—55]. Следует сразу отметить, что математический аппарат, оптимальный для анализа моделей патологических состояний в первичных фармакологических оценках психотропных препаратов [70, 79, 80, 93], недостаточен, а зачастую и не корректен в приложении к изучению функции ГАМК-рецептора [56, 72, 77, 94].

Методические подходы и методы анализа функционирования экспериментальных моделей, включающих воздействия на систему

обмена ГАМК в организме, не вышли за рамки первичных фармакологических оценок [2, 5, 60, 70]. Как правило, в исследованиях определяют противосудорожное действие модуляторов ГАМК-рецептора на фоне введения эффективных доз (обычно $ЭД_{95}$) тиосемикарбазида, обратимого ингибитора L-глутамат-1-карбоксилазы (ГДК, КФ 4.1.1. 15) [25]. Ввиду того, что в литературе обсуждается возможность ингибирования процесса трансаминирования ГАМК, катализируемого 4-амино-бутират-2-оксоглутараттрансаминазой (ГАМК-Т, КФ 2.6.1.

Таблица 5.1. **Распределение вероятности (P) и частот (h/N) развития судорожного припадка у мышей при в/б введении им различных доз тиосемикарбазида (I) 1- и 4-фенилтиосемикарбазида (II, III)**

Доза, мг/кг	Соединение					
	I $NH_2—CS—NH—NH_2$		II $NH—CS—NH—NH_2$ | Ph		III $NH_2—CS—NH—NH$ | Ph	
	P	h/N	P	h/N	P	h/N
6,25	—	—	0	0/6		
8	—	—	0,33	2/6		
10	0	0/6	—	—		
12	0,17	1/6	—	—		
14	0,33	2/6	—	—		
15	—	—	0,33	4/12		
16	0,50	3/6	—	—		
17	—	—	0,50	3/6		
18	0,83	5/6	—	—		
20	0,83	5/6	0,50	3/6		
25	1,0	6/6	0,83	5/6		
100	—	—	1,0	6/6	0	0/6
200	—	—	—	—	0	0/6
400	—	—	—	—	0	0/6
$ЭД_{50}\pm m$	15,49±1,02		16,57±1,06			

19), гидразинами (в частности, производными семикарбазида), и в связи с этим проявлением сочетания судорожного и противосудорожного эффектов. Нами исследована фармакологическая активность в ряду замещенных производных тиосемикарбазида. Для определения фармакофорного фрагмента молекулы последнего параллельно рассмотрена фармакологическая активность исходного соединения и его 1- и 4-фенилпроизводных (табл. 5.1). Как видим из опытных данных, 4-фенилтиосемикарбазид недостоверно ($t_\alpha = 0{,}74$) отличается по способности вызывать у животных тоническую экстензию (ТЭ). 1-Фенилтиосемикарбазид по данному показателю фармакологической активности не обнаружил даже при введении в высоких дозах (до 400 мг/кг). Субсудорожные дозы (5 мг/кг) тиосемикарбазида и его 4-фенилзамещенного аналога не изменяли значений $ЭД_{50}$ и вероятности развития эффекта ТЭ у животных при введении им коразола (30—110 мг/кг). 1-фенилтиосемикарбазид также не проявлял противосудорожного эффекта в дозах 25—400 мг/кг.

Обусловленное введением тиосемикарбазида прогрессивное снижение содержания ГАМК в мозгу [25] создает уникальную возможность изучения функции модуляторов ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля в условиях ее дефицита in vivo.

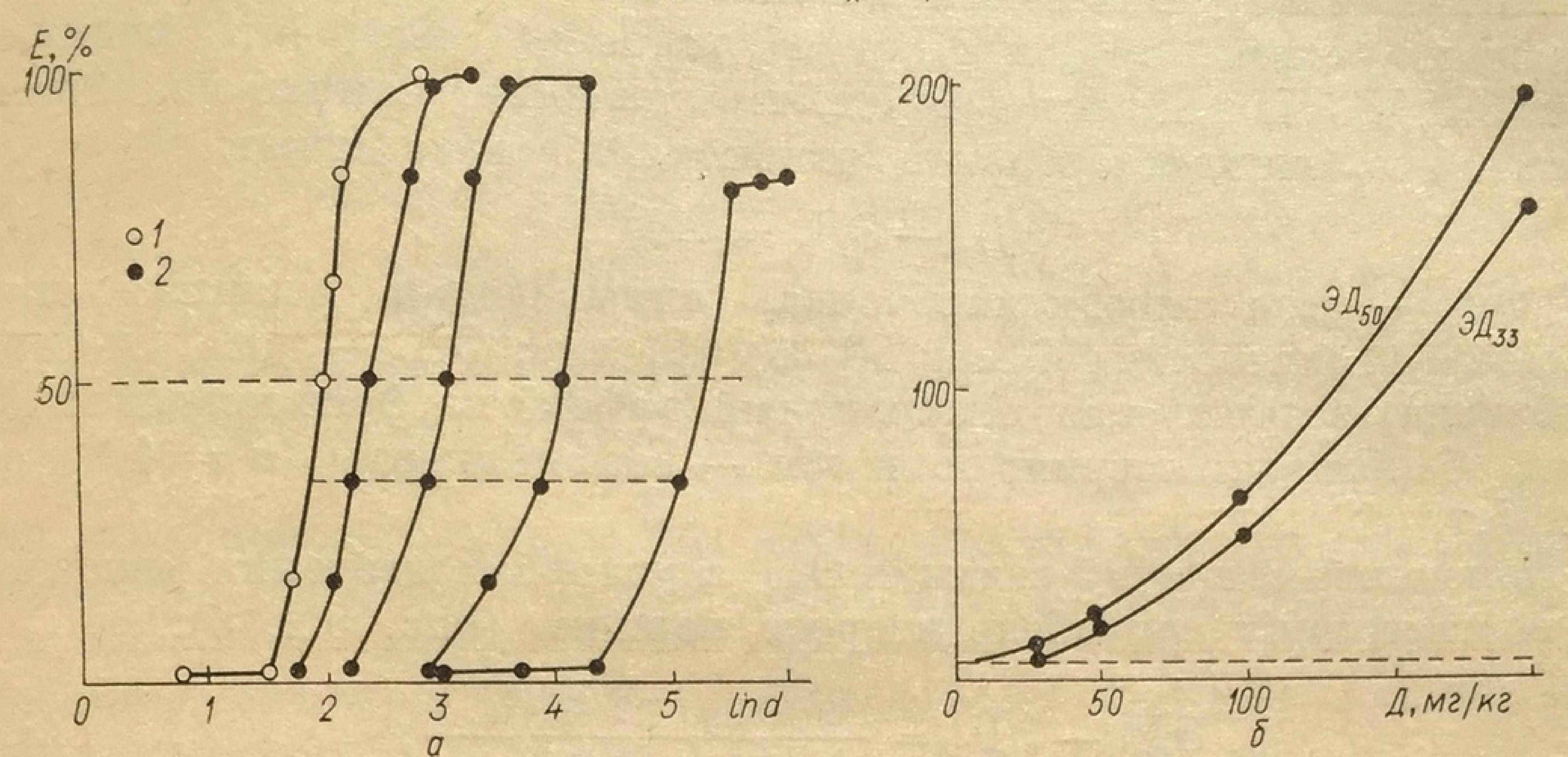


Рис. 5.1. Изменение выраженности судорожного действия тиосемикарбазида (мг/кг):

а — в контроле (*1*) и на фоне введения мышам различных доз барбитала натрия (*2*); *б* — изменение значений величин $ЭД_{50}$ и $ЭД_{30}$ при введении экспериментальным животным барбитала натрия (по оси абсцисс — вводимые дозы барбитала натрия, по оси ординат — тиосемикарбазида)

Для изучения указанных вопросов лиганды ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля, взаимодействующие с различными его субъединицами,— мединал и феназепам — вводили в/б за 1 ч до введения различных доз тиосемикарбазида группам мышей ($n = 6—18$) и регистрировали вероятность развития ТЭ в течение

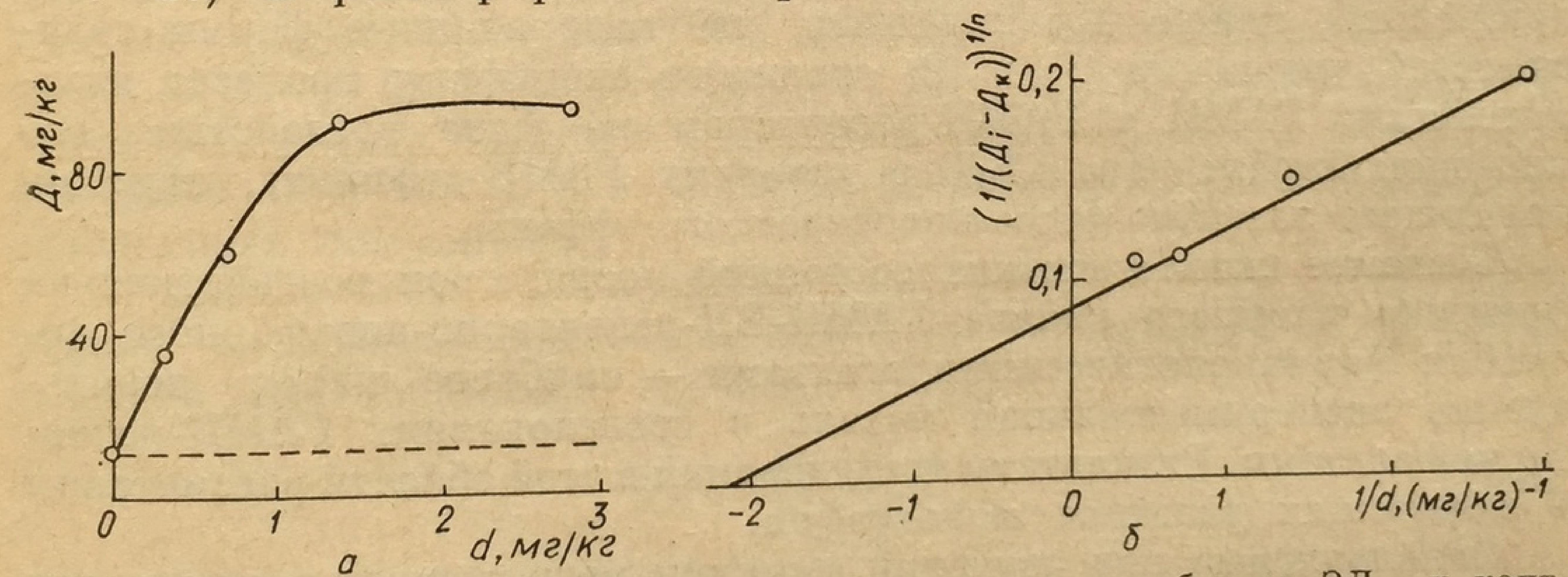


Рис. 5.2. Значения величин эффективных доз тиосемикарбазида $ЭД_{50}$ у контрольных животных (штриховая кривая) и на фоне введения мышам возрастающих доз феназепама (*d*) в прямых (*а*) и двойных обратных координатах при $n = 2$ (*б*)

180 мин опыта. $ЭД_{50} \pm m$ определяли по методу площадей (Кербера). Формы проявления фармакологического эффекта бензодиазепина и барбитурата в условиях развития ГАМК-дефицитного судорожного припадка, вызываемого введением животным тиосемикарбазида, представлены на рис. 5.1 и 5.2. Как видим, наклон кривых

логарифмы дозы — эффект тиосемикарбазида сохраняет свое значение на фоне введения возрастающих доз барбитала-натрия (рис. 5.1). Это делает возможным (корректным) изучение характера изменения величин изодинамических доз тиосемикарбазида (для сравнения взяты $ЭД_{50}$ и $ЭД_{30}$) в условиях введения мединала (рис. 5.1, *а*). Из рисунка следует, что значения величин изодинамических доз тиосемикарбазида закономерно возрастают:

$$ЭД_i - ЭД_к = Ad_i^{nm}, \tag{5.1}$$

где $ЭД_к$ — доза тиосемикарбазида, вызывающая развитие определенной вероятности (30 или 50 %) эффекта; $ЭД_i$ — доза тиосемикарбазида, вызывающая аналогичный эффект на фоне введения дозы d_i барбитала натрия; A и nm — коэффициенты ($n = 1{,}8$, см. рис. 5.1, *б*).

Изменение значений величин $ЭД_i$ в условиях введения феназепама соответствует гиперболе второго порядка (рис. 5.2, *б*):

$$ЭД_i - ЭД_к = \frac{(ЭД_{max} - ЭД_к)\, d_i^{nm}}{(K_Д + d_i^m)^n}, \tag{5.2}$$

где d_i — вводимые дозы феназепама, $n = 2$.

В данных случаях примечательно соответствие значений величин показателей степени n, составивших 1,8 и 2 для обеих опытных серий, значению величины коэффициента Хилла, полученного в опытах in vitro при исследовании формы зависимости доза — эффект действия ГАМК по показателю ионной (хлорной) проводимости нейрональных мембран ($n = 2$) [69]. В том же исследовании показано, что зависимость доза — эффект, определяемая концентрацией бенздиазепина (хлордиазепоксида),— гипербола первого порядка. Следовательно, можно предположить, что квадратичные формы зависимостей уравнений (1) и (2) отражают специфику процесса взаимодействия ГАМК с ГАМК-рецептором на фоне воздействия его лигандов (барбитурата и БД) в условиях ГАМК-дефицита, обусловливающего развитие фармакологического эффекта.

Создание патологических состояний посредством воздействия на функцию хлорного канала ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля фармакологическими агентами — наиболее широко используемая экспериментальная модель в исследованиях ГАМК-медиаторной системы. Результаты исследований в этой области рассмотрены в следующих разделах монографии.

Используемые при изучении функции медиаторных аминокислот нейрофизиологические экспериментальные модели и основные результаты их исследований прекрасно освещены в работах [25, 70], основные экспериментальные модели по изучению показателей поведения в условиях конфликтной ситуации, эмоционального стресса и другие — в статье [70], а особенности проявления фармакологических эффектов лигандов ГАМК-рецептора по данным показателям — в обзорах [32, 37, 44, 47, 53—55]. В связи с этим ограничимся рассмотрением методов математического анализа (сложных и слабо детерминированных систем) указанных моделей.

Статистический анализ фармакологических эффектов и их сводимость. Основные схемы взаимодействия в фармакологических исследованиях ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля можно охарактеризовать как многомерные по входным факторам (обычно динамичным) и много- и одномерные по выходным величинам. Многомерные выходные величины можно свести к одному показателю, поскольку изменения выходных величин в исследованиях функции ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля опосредованы изменением функции хлорного канала — единственного эффектора супрамолекулярного ансамбля. Например, в фармакологическом скрининге используются в качестве регистрируемых показателей вероятности развития клоникотонических судорог (КТС) [70, 95—97], ТЭ [2, 96, 97] и гибели животных [2, 96, 97] при введении коразола. При этом предполагается, что изменение первого регистрируемого показателя (на фоне введения животным противосудорожных агентов) адекватно выраженности противосудорожной активности соединений в условиях малого эпилептического припадка [70, 95, 96]. При внутривенной инфузии раствора коразола регистрируемые показатели определяются как минимальные эффективные дозы коразола, вызывающие ложноклонические (миоклонические) подергивания (ДЛКП), клоникотонические судороги (ДКТС) и тоническую экстензию (ДТЭ) [70, 81—89, 98]. Нами изучен характер взаимосвязи указанных выходных величин биосистемы при их альтернативном и градуированном способах регистрации.

В работе [98] исследовано влияние скорости инфузии коразола (пентилентетразола) на его концентрацию в сыворотке крови, головном мозгу и спинномозговой жидкости (СМЖ) в момент регистрации миоклонических подергиваний и развития максимально выраженных судорог. Методами ГЖХ показано, что независимо от скорости (0,155—1,53 мг/мин) и времени (5—52 мин) введения уровни пентилентетразола близки в указанных биосубстратах и составляют для СМЖ 46 и 109 мг/л в моменты регистрации соответствующих судорожных показателей.

В связи с этим целесообразно предположить, что судорожный эффект, вызываемый введением коразола, регистрируется при превышении его порогового значения ($E_{\text{пор}}$):

$$E_i = \frac{E_{\max} C_i}{K + C_i}, \tag{5.3}$$

где $E_{\max}$ — максимально возможный эффект; C_i — концентрация в биофазе коразола после введения d_i дозы; K — постоянная. Пороговое значение определяем следующим образом:

$$E_{\text{пор}} = \frac{E_{\max} C_{\text{пор}}}{K + C_{\text{пор}}}. \tag{5.4}$$

Значение величины эффекта сопровождается вариацией, пропорциональной его величине: $m_{E_i} = aE_i$. Вероятность развития

эффекта по регистрируемому показателю выражается в пробитах:

$$E_{\text{пр}} = 5 + \frac{E_i - E_{\text{пор}}}{\alpha E_i}, \quad (5.5)$$

где $\alpha = \frac{\sigma_i}{C_i}$; C_i— концентрация коразола; σ_i характеризует вариацию этой величины. Учитывая формы зависимости развития эффекта (3) и (4), получаем

$$E_{\text{пр}} = 5 + \frac{1}{\alpha}\left(1 - \frac{E_{\text{пор}}}{E_i}\right) = 5 + \frac{1}{\alpha}\left(1 - \frac{E_{\text{пор}}(K + C_i)}{E_{\max} C_i}\right).$$

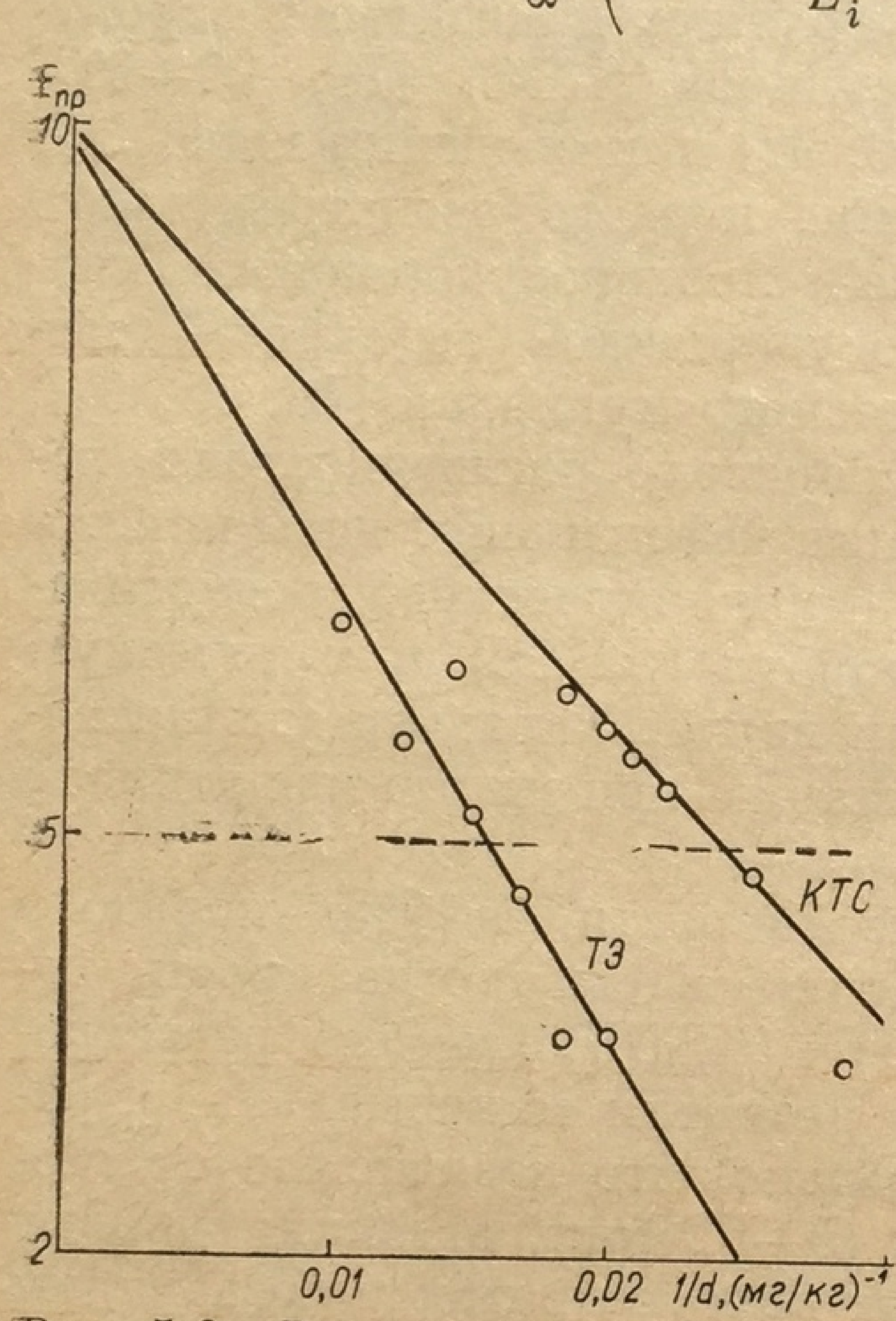


Рис. 5.3. Распределение вероятности развития КТС и ТЭ в пробитах ($E_{\text{пр}}$) от обратных величин вводимым мышам подкожно доз коразола (d)

Принимая $E_{\text{пор}}/E_{\max} = \beta$, имеем

$$E_{\text{пр}} = 5 + \frac{1 - \beta}{\alpha} - \frac{\beta K}{\alpha}\frac{1}{C_i}. \quad (5.6)$$

В опыте мы не определяли величин C_i, считая их согласно [98] пропорциональными вводимым дозам d_i.

Использование выражения (4) дает возможность получить линейную функцию в координатах $E_{\text{пр}} - d_i^{-1}$, учитывающую статистические особенности зависимости доза — эффект (для эффекта выраженного в альтернативной форме, рис. 5.3).

Сравнительный анализ оценки альтернативного эффекта и расчет параметров кривых в координатах $E_{\text{пр}}$— $\ln d_i$ (модель I) и $E_{\text{пр}} - 1/d_i$ (модель II) проводили методом наименьших квадратов взвешенных величин [99, 100], определяя весовой множитель следующим образом:

$$w = qpN,$$

где q и p — вероятность проявления и отсутствия эффекта; N — объем группы.

На основании полученных результатов можно сделать вывод о соответствии используемой модели II опытным данным. Значения $ЭД_{50}$ по обоим компонентам судорожного припадка — КС и ТЭ, определяемые на основании моделей I и II, сопоставимы. $ЭД_{50} \pm m_{ЭД_{50}}$ по модели I КС = 42,38 ± 1,86, ТЭ = 65,89 ± 1,52; по модели II — 42,17 ± 1,40 и 65,39 ± 1,69 соответственно. Однако соответствие расчетных значений экспериментальным величинам [99] больше при интерпретации данных на основании модели II. Соотношение минимальных сумм квадратов отклонений, полученных по моделям I (SS_1) и II (SS_2), составляет для КС — 1,6, а для ТЭ — 1,52. Анализ с использованием модели II позволяет статистически

обоснованно определять вероятность проявления судорожного эффекта при введении любых доз коразола, по обоим регистрируемым показателям судорожного припадка и указывает форму функциональной зависимости (сводимость) величин КС и ТЭ.

Описанный подход применим и в случае оценки противосудорожного действия антагонистов коразола — производных БД. Показано, что введение феназепама и хлордиазепоксида не изменяет гиперболическую форму зависимости доза — эффект, а лишь повышает

Таблица 5.2. **Сопоставление значений опытных данных расчетных параметров зависимости доза — эффект при введении мышам феназепама и хлордиазепоксида по тесту антагонизма с коразолом ($ЛД_{99,8}$ = 100 мг/кг)**

Доза, мг/кг	Феназепам: КТС $E_{эксп}$	КТС $E_{теор}$	ТЭ $E_{эксп}$	ТЭ $E_{теор}$	Доза, мг/кг	Хлордиазепоксид: КТС $E_{эксп}$	КТС $E_{теор}$	ТЭ $E_{эксп}$	ТЭ $E_{теор}$
0,350	6,39	6,15	—	—	12	5,67	4,92	—	—
0,175	5,67	5,35	—	—	10	4,33	4,74	—	—
0,150	4,79	5,08	6,39	5,81	8	4,33	4,47	—	—
0,120	4,33	4,55	5,67	5,61	6	4,03	4,01	—	—
0,087	4,03	3,75	4,43	5,31	5	4,03	3,66	5,43	5,51
0,075	—	—	4,57	5,11	4	—	—	5,21	5,25
0,044	—	—	4,33	4,05	3	—	—	5,00	4,81
0,037	—	—	3,61	3,71	2	—	—	3,67	3,92
Параметры регрессии									
$a + m_a$	6,95±0,133		6,51±0,01			5,82±0,136		6,57±0,161	
$b \pm m_b$	0,28±0,0017		0,105±0,01			10,82±0,99		5,29±1,08	
$\sigma^2_{эксп}$	1,01		1,22			1,11		1,0	
$ЭД_{50} \pm m_{ЭД_{50}}$	0,143±0,028		0,069±0,043			13,25±2,51		0,805±0,26	

Примечание: a — свободный член уравнения линейной регрессии; b — тангенс угла наклона данной прямой.

значения эффективных доз коразола. Это дает возможность провести сравнительный анализ противосудорожной активности указанных веществ с использованием формального аппарата модели II. Результаты данного эксперимента представлены в табл. 5.2.

Действие производных БД характеризуется гиперболической формой зависимости доза — эффект и одинаковым максимально возможным эффектом для обоих компонентов судорожного припадка. Одним из количественных методов определения судорожной активности является внутривенная инфузия судорожных агентов, в частности, коразола. Регистрация выходных координат биосистемы (показатели судорожного припадка ЛКП, КТС, ТЭ) возможна лишь при достижении определенной (пороговой) концентрации коразола в биообъекте [98]. Однако в данных условиях опыта определяются не пороговые концентрации коразола, а лишь минимальные эффективные дозы вещества, пропорциональные данной концентрации.

Оценка минимальных эффективных доз коразола осуществляется в течение 0,1—2 мин опыта, что предполагает несущественное влияние скорости элиминации препарата из объема распределения и, следовательно, применение пробит-анализа [93] в данном случае неадекватно условиям опыта. Объем вводимого коразола сопоставим с объемом распределения (плазмы крови). Исходя из вышесказанного, можно предположить, что концентрация коразола в плазме крови ($C_{\text{пл}}$) при достижении пороговых значений может быть выражена следующим образом:

$$C_{\text{пл}} = \frac{C_{\text{кор}} V_{\text{кор}}}{V_{\text{кор}} + V_{\text{пл}}}, \qquad (5.7)$$

где $C_{\text{кор}}$ — концентрация вводимого коразола; $V_{\text{кор}}$ и $V_{\text{пл}}$ — объемы вводимого внутривенно коразола и плазмы.

При введении d_i-дозы коразола, его концентрация в плазме крови составляет $C_{\text{пл}} \pm \sigma_i$ (σ_i определяет характер варьирования концентрации внутри данной выборки). Тогда эффект в пробитах можно выразить так:

$$E_{\text{пр}} = \frac{C_{i_{\text{пл}}} - C_{\text{пор}}}{\alpha C_{i_{\text{пл}}}} + 5.$$

Если $\alpha = \dfrac{\sigma_i}{C_{\text{пл}}}$, то

$$E_{\text{пр}} = \left(\frac{1}{\alpha} - \frac{C_{\text{пор}}}{C_i}\,\frac{1}{\alpha}\right) + 5. \qquad (5.8)$$

В опыте мы ограничиваемся определением не концентрации, а дозы вводимого коразола. В этом случае

$$E_{\text{пр}} = \left(\frac{1}{\alpha} - \frac{\text{ЭД}_{50}}{\alpha d_i} + 5\right) \pm (m_{1/\alpha}^2 + m^2_{\text{ЭД}_{50}/\alpha d_i^{-2}})^{0,5}. \qquad (5.9)$$

Ошибка α^{-1} равна:

$$m_{1/\alpha} = [n^{-1}(0{,}5\alpha^{-2} + 1)]^{0,5}.$$

Таким образом, график в координатах $E_{\text{пр}} - d_i^{-1}$ пересекает ординату в точке $(\alpha^{-1} + 5)$, тангенс угла наклона линии регрессии $\text{ЭД}_{50}^{-1} \cdot \alpha^{-1} = \sigma_d$. Тогда

$$\text{ЭД}_{50} = n\left[\sum_{i=1}^{i=n} d_i^{-1}\right]^{-1} = d_h,$$

т. е. ЭД_{50} — средняя гармоническая значений ДЛКС, ДКТС и ДТЭ выборки. Характер распределения значений ДЛКС$^{-1}$, ДКТС$^{-1}$, ДТЭ$^{-1}$ подтверждает независимость величины α^{-1} от значений ЭД_{50} (α^{-1} является функцией C_i, а не $C_{\text{пор}}$).

Введение животным производных БД вызывает рост значений ДЛКС, ДКТС и ДТЭ (рис. 5.4) и прямо пропорциональное возрастание средних квадратических ошибок выборок ($\sigma_i = \alpha d_i$) (рис. 5.5). Показано, что значения величин ДЛКС, ДКТС, ДТЭ в контрольной

группе животных в высокой степени взаимосвязаны. Коэффициенты корреляции для ДЛКС и ДКТС равны 0,95, для ДТЭ и ДЛКС — 0,83 и для ДТЭ и ДКТС — 0,92 (рис. 5.6). Сопоставление минимальных доз регистрируемых компонентов судорожного припадка у

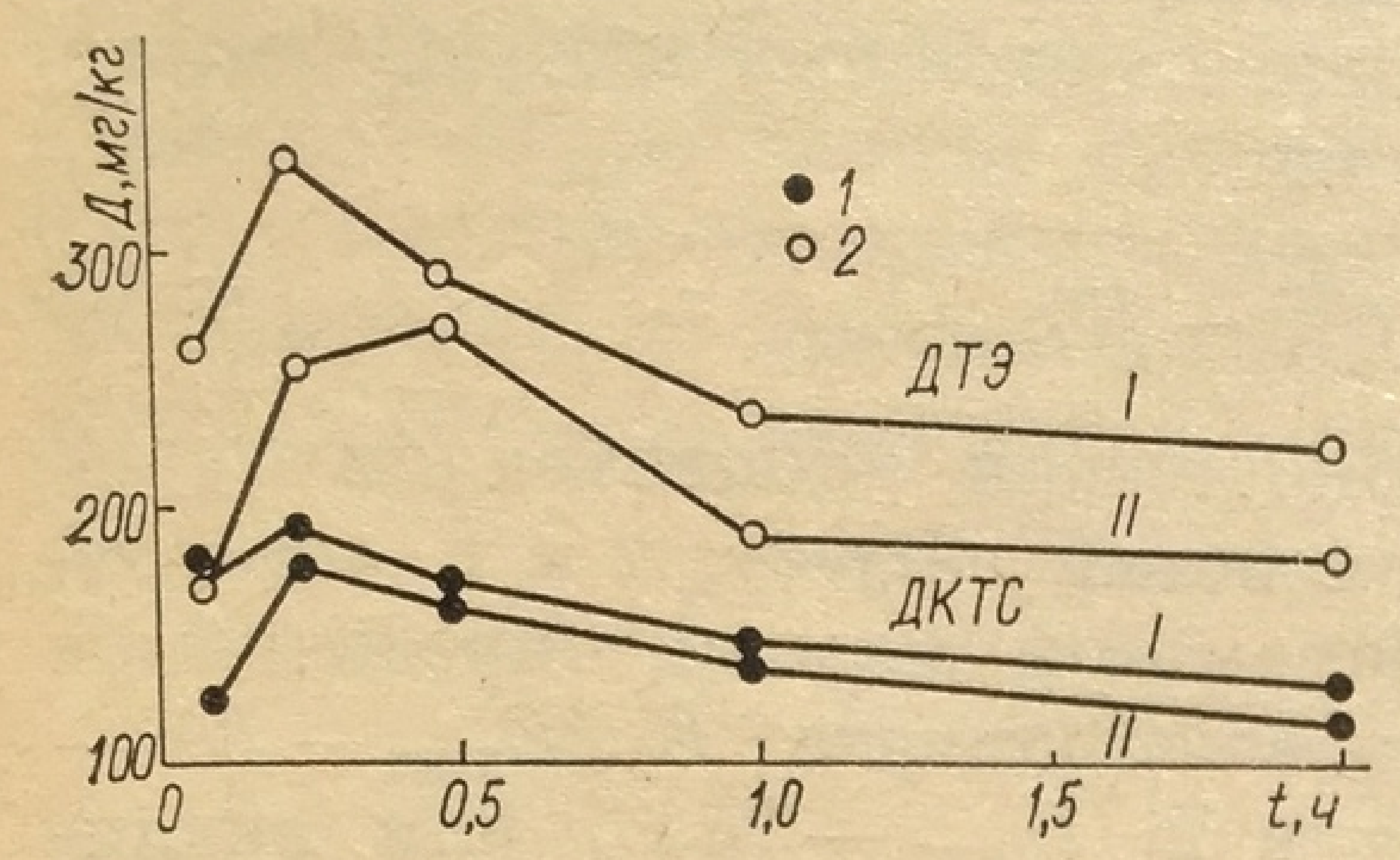


Рис. 5.4. Кинетика изменения минимальных эффективных доз коразола ($Д_i$), вызывающих КТС (ДКТС, *1*) и ТЭ (ДТЭ, *2*) у мышей после введения им феназепама (I) и его 3-оксиметаболита (II)

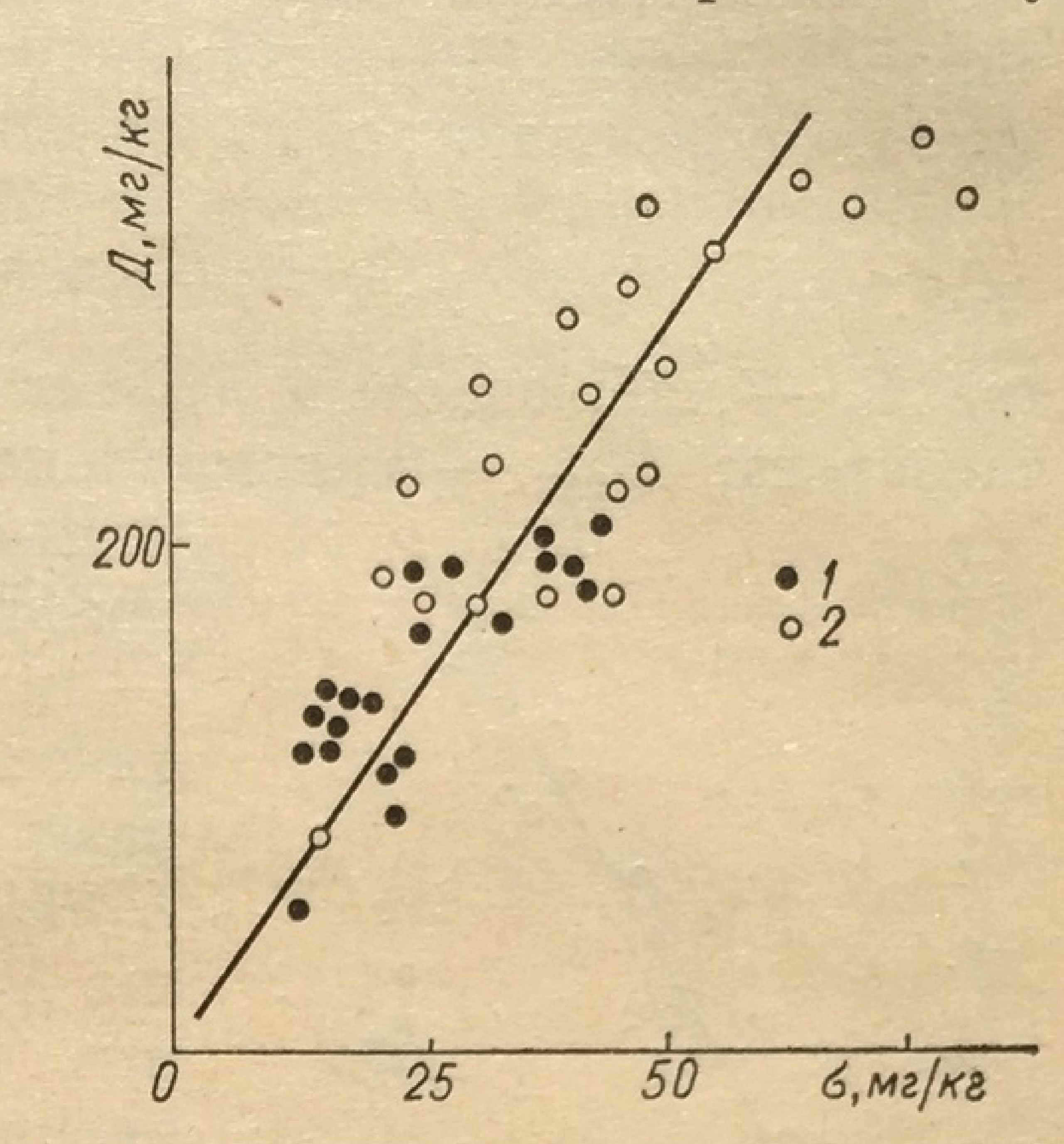


Рис. 5.5. Взаимосвязь средних групповых величин минимальных эффективных доз коразола, вызывающих КТС (ДКТС, *1*) и ТЭ (ДТЭ, *2*), и средней квадратической ошибки (σ) регистрируемых величин после введения животным феназепама и его 3-оксиметаболита

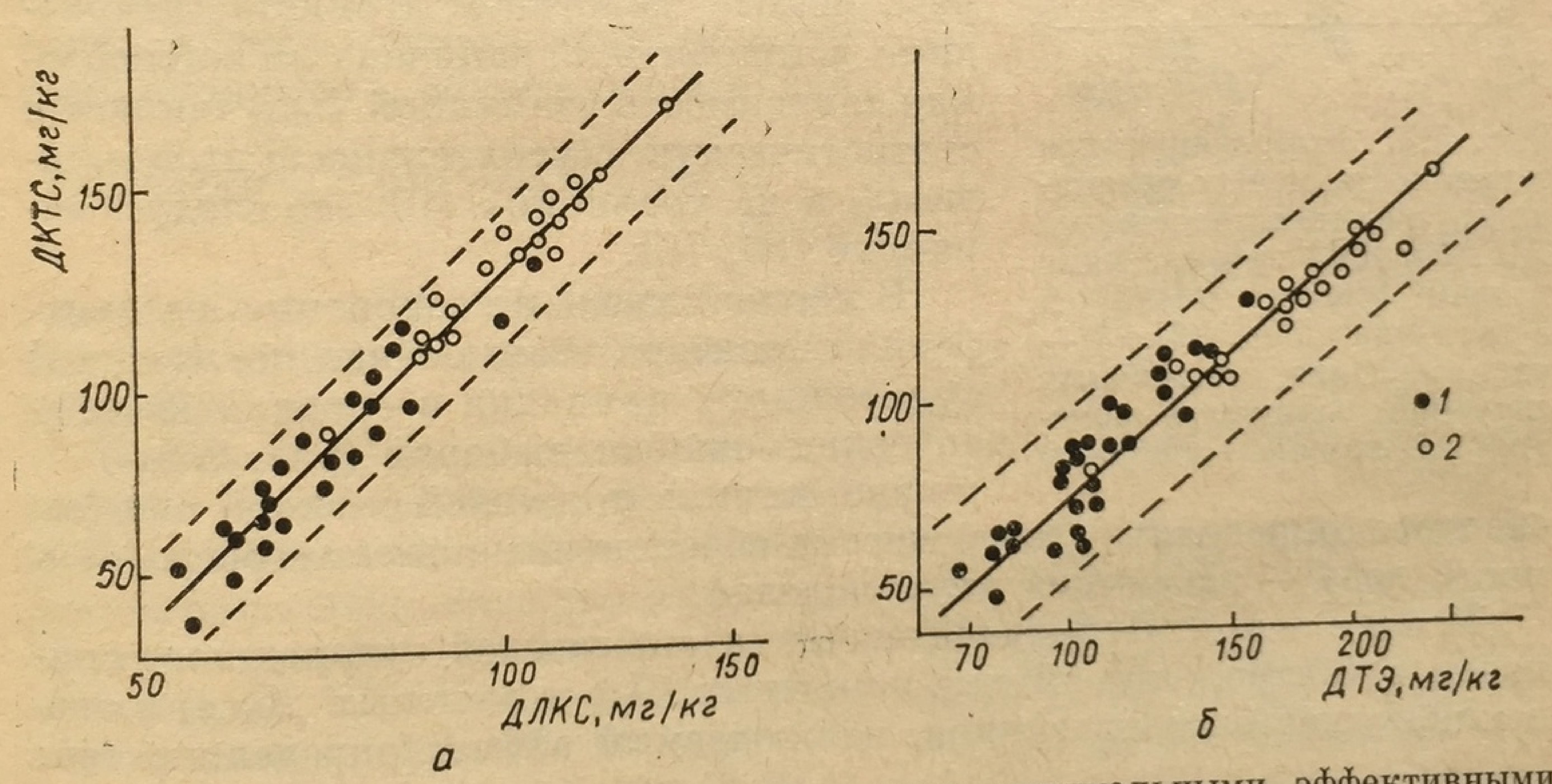


Рис. 5.6. Корреляционная зависимость между минимальными эффективными дозами коразола, вызывающими ЛКС и КТС (ДКТС) (*а*), ТЭ (ДТЭ) и ДКТС (*б*) на фоне введения мышам сулазепама и его метаболитов:

1 — распределение значений единичных опытов в контрольной группе мышей; *2* — средние значения минимальных эффективных доз коразола в опытных группах животных

животных контрольной группы со значениями соответствующих эффектов, формирующихся на фоне введения животным сулазепама, феназепама и их метаболитов (рис. 5.7), показало, что у последних значения ДЛКС, ДКТС и ДТЭ повышались, но общая структура судорожного припадка сохранялась.

Рассмотрим характер противосудорожного действия феназепама и его 3-оксипроизводного. Для этого остановимся на некоторых моментах математического описания данных зависимостей.

Многие эмпирические закономерности, наблюдаемые между величиной эффекта E_i, вызываемой введением агониста и дозой антагониста, определяются из зависимости

$$E_i/E_{\max} = C_i^n/(C_i^n + K), \tag{5.10}$$

где E_i — наблюдаемый эффект в присутствии концентрации C_i антагониста; $E_{\max}$ — максимально возможный эффект; n и K — постоянные. Параметры модели, определяемые графически в координатах $E_i/(E_{\max} - E_i)$ — $\ln C_i$ или $E_i/E_{\max} - \ln C_i$ или аналитически по уравнению (8) [56, 76], включают в изначальные расчеты величин $E_i/(E_{\max} - E_i)$ и $E_i/E_{\max}$ значение величины $E_{\max}$. При данных подходах определение последней ведется графически, что вносит систематическую ошибку в расчет величин K, n, E_i. Кроме того, при исследовании характера влияния антагониста на формирование первичного эффекта, определяемого действием агониста, необходимо установить, ограничена ли наблюдаемая зависимость величиной $E_{\max}$ (включая статистическую состоятельность этой величины), а из уравнения (10) это следует априорно [56, 76].

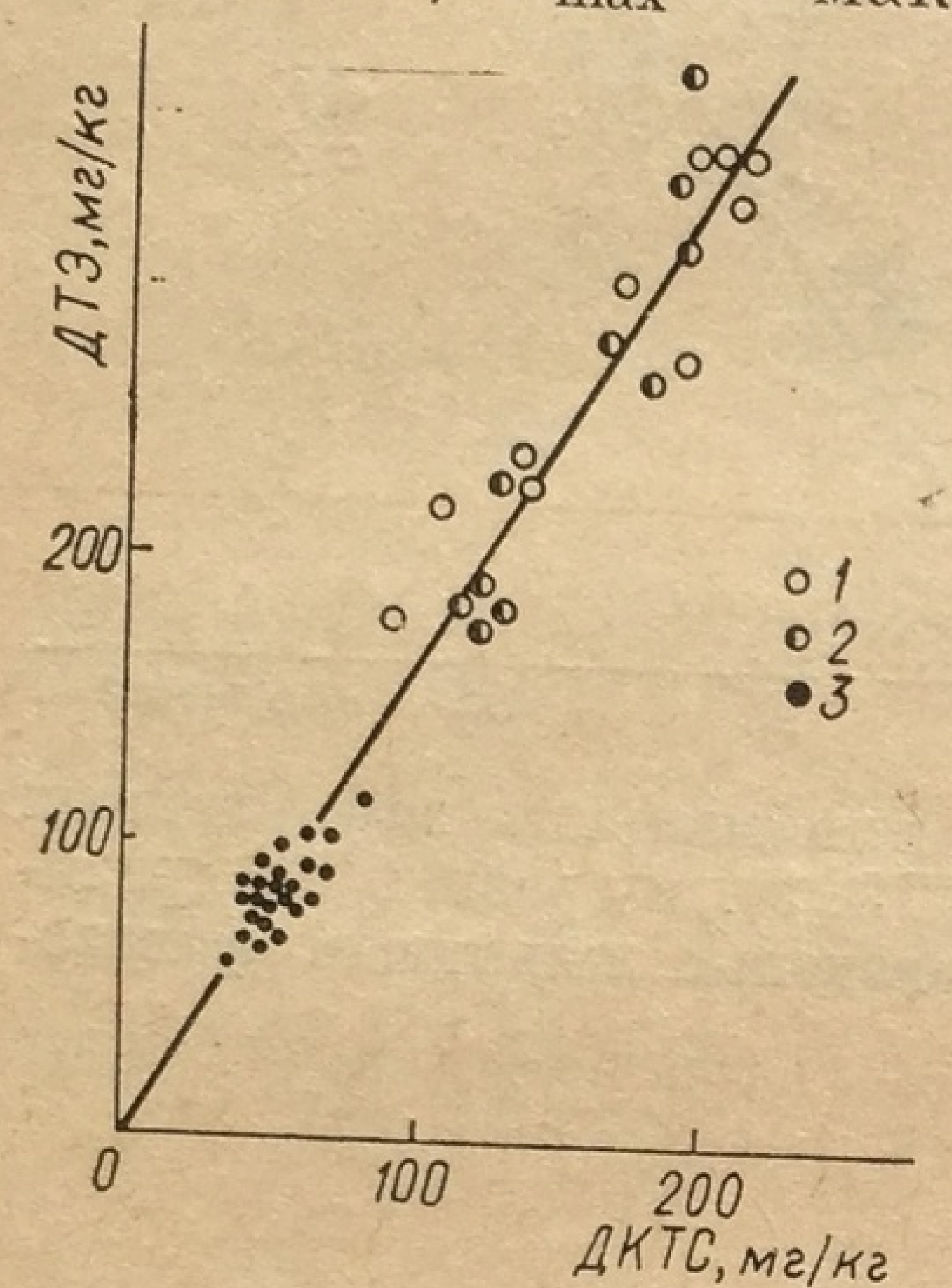


Рис. 5.7. Корреляционная зависимость между средними групповыми значениями ДКТС и ДТЭ при введении мышам феназепама (*1*) и 3-оксифеназепама (*2*). (*3* — распределение единичных значений величин в контрольной группе животных)

В нашем случае на основании рассмотрения характера взаимосвязи показателей судорожного припадка и средних квадратических ошибок выборок (рис. 5.5—5.7) можно, приняв σ_i лучшей оценкой ошибки среднего, определить статистически обоснованные параметры зависимости доза — эффект из двух моделей.

М о д е л ь I. Используя значения показателей судорожного припадка в контрольной группе животных (Д$_к$) и опытных Д$_n$ при введении d_n доз бенздиазепинов, наблюдаемый эффект определяем так:

$$\Delta Д_j \pm m_{\Delta Д_j} = [Д_j - Д_к] \pm (m^2_{Д_j} + m^2_{Д_к})^{0,5} = \frac{(Д_{\max} - Д_к)\, d_j}{d_{50} + d_j}, \tag{5.11}$$

где $m_{Д_j}$, $m_{Д_к}$ и $m_{\Delta Д_j}$ — средние квадратические отклонения среднего соответствующих величин. Зависимость линейна в двойных обратных координатах $(Д_i - Д_к)^{-1} - d_i^{-1}$), т. е. линейная регрессия определяется следующим образом:

$$\Delta Д_j^{-1} = (Д_j - Д_к)^{-1} = \frac{1}{Д_{\max} - Д_к} + \frac{d_{50}}{Д_{\max} - Д_к}\frac{1}{d_j}. \tag{5.12}$$

В данных координатах тангенс угла наклона прямой равен $d_{50}/(Д_{max} - Д_к)$ и свободный член уравнения $(Д_{max} - Д_к)^{-1}$ соответствует K выражения (8), $n = 1$ (рис. 5.8).

В качестве критерия соответствия данной функции экспериментальным значениям использован метод наименьших квадратов отклонений теоретической кривой от экспериментальных точек [99]. В силу пропорционального возрастания величины σ_i (неравноточности измерений) от введенной дозы вещества (рис. 5.5) необходимо введение в систему расчетов SS весового множителя величины $(Д_i - Д_к)^{-1}$:

$$w_j = \frac{1}{m^2_{\Delta Д_j}} = \left[\frac{m^2_{Д_j} + m^2_{Д_к}}{(Д_j - Д_к)^4} \right]^{-1}. \qquad (5.13)$$

Следовательно,

$$SS = \sum_{j=1}^{j=n} w \left[(\Delta Д_j^{-1} - \Delta Д_{j,р}^{-1})^2 + n m^2_{\Delta Д_j^{-1}} \right]. \qquad (5.14)$$

Здесь $\Delta Д_{jр}^{-1}$ — расчетные значения $\Delta Д_j^{-1}$ для d_j дозы БД; n — количество экспериментальных животных.

Модель II основана на выражении $\alpha = \mathrm{const} = Д_j \sigma_j$, из выражения вытекает возможность использования в регрессивном анализе весового множителя, определяемого как

$$w = n_j n_к (Д_j - Д_к)^4 (Д_j^2 n_i + Д_к^2 n_j)^{-1}, \qquad (5.15)$$

где $n_к$ и n_j — число животных в контрольной группе и после введения d_j дозы БД.

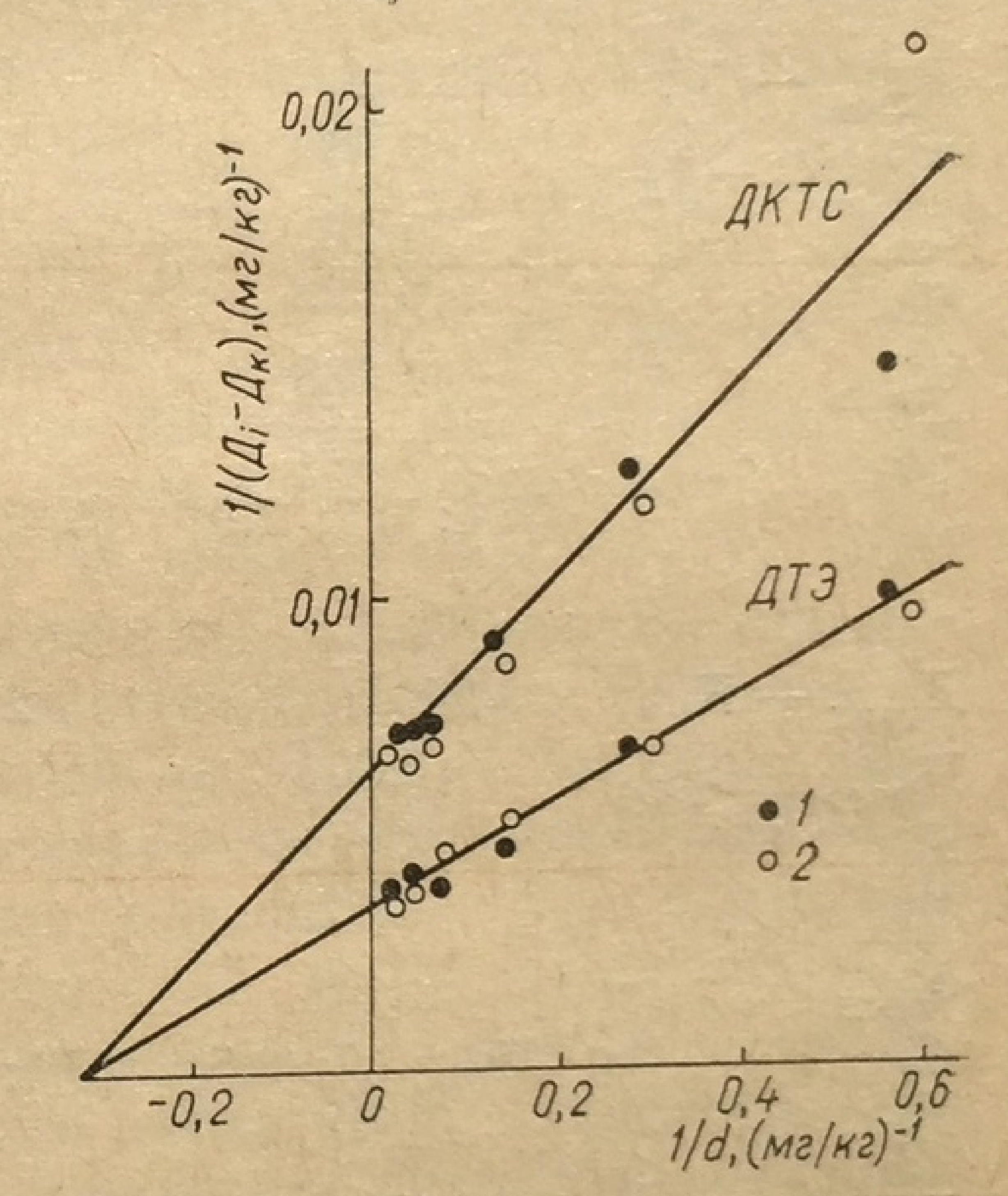


Рис. 5.8. Изменение значений минимальных эффективных доз коразола, вызывающих КТС (ДКТС) и ТЭ (ДТЭ) (разница между значениями в опытных ($Д_i$) и контрольной ($Д_k$) группах мышей) при введении различных доз феназепама (*1*) и его 3-оксипроизводного (*2*) в двойных обратных координатах

Применение вышеописанных моделей для оценки действия феназепама и 3-оксифеназепама позволяет определить параметры зависимости доза — эффект с оценкой ошибки их определения (табл. 5.3). Сопоставление расчетных данных $\Delta Д_р$ — с экспериментальными величинами (табл. 5.4), а также оценка кривых доза — эффект, выраженных уравнением (11) по критерию Фишера [99], показали высокую степень соответствия в описании наблюдаемой зависимости моделями I и II. Соответствие расчетных значений экспериментальным величинам больше при описании возрастания значений ДТЭ и ДКТС от вводимых доз БД, чем при описании зависимости ДЛКС от вводимых доз соединений, что позволяет в дальнейших исследованиях исключить из рассуждений данный показатель судорожного припадка.

Таблица 5.3. Значения параметров регрессионного анализа зависимости доза — эффект, проведенного методом наименьших квадратов взвешенных величин

Показатель	Модель I		Модель II	
	Феназепам	3-Оксиметаболит	Феназепам	3-Оксиметаболит
ДЛКС				
$Д_{max} - Д_к$	96,98	1,14	92,08	75,41
$m_{(Д_{max} - Д_к)}$	0,755	1,219	1,094	0,633
d_{50}	1,95	1,48	1,94	1,14
$m_{d_{50}}$	0,038	0,022	0,060	0,027
$\sigma^2_{эксп}$	1,301	1,166	1,429	1,330
$F_ф$	4,0	2,2	5,7	4,5
$F_т$	{5,4; 3,7; 2,9}	{5,4; 3,6; 2,5}	{5,4; 3,7; 2,5}	{5,4; 3.5; 2,5}
ДКТС				
$Д_{max} - Д_к$	166,6	154,1	160,3	153,1
$m_{(Д_{max} - Д_к)}$	3,68	3,05	1,28	1,03
d_{50}	1,23	1,10	1,21	1,00
$m_{d_{50}}$	0,021	0,021	0,029	0,020
$\sigma^2_{эксп}$	1,128	1,122	1,232	1,135
$F_ф$	1,707	1,682	3,081	1,860
$F_т$	{5,4; 3,7; 2,9}	{5,4; 3,6; 2,5}	{5,4; 3,7; 2,5}	{5,4; 3,6; 2,5}
ДТЭ				
$Д_{max} - Д_к$	296,2	297,0	274,6	290,0
$m_{(Д_{max} - Д_к)}$	5,97	3,33	2,43	2,48
d_{50}	1,182	1,560	1,011	1,414
$m_{d_{50}}$	0,022	0,012	0,029	0,030
$\sigma^2_{эксп}$	1,148	1,110	1,151	1,264
$F_т$	{5,4; 3,7; 2,5}	{5,4; 3,6; 2,5}	{5,4; 3,7; 2,5}	{5,4; 3,6; 2,5}
$F_ф$	1,97	1,52	2,00	3,64

Итак, применение метода вероятностного математического моделирования для оценки противосудорожного действия производных БД дает возможность получить статистически обоснованные параметры зависимости доза — эффект ($ЭД_{макс}$ и d_{50} — с ошибкой их определения) и использовать их в дальнейших исследованиях принципов функционирования ГАМК-ергической системы in vivo.

5.2. Быстрообратимые и сложные эффекты в фармакологических исследованиях функции ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля

Взаимодействия между биологической системой и средой в эксперименте могут быть слабыми вероятностными, сильными вероятностными и взаимно однозначными [65, 77]. К первым двум типам экспе-

риментальных моделей в фармакологических исследованиях ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля относятся биосистемы, изменяющие число состояний в результате перемены внутренней структуры (адаптационные, биохимические и другие изменения в длительных экспериментах) и связей между структурами системы (показатели поведения в условиях обучения). К ним относятся исследования с однозначно детерминированным соответствием выходных величин (определяемых как эффект) и изменением концентраций (доз) времени действия фармакологических агентов. В современной литературе [76] в соответствии с указанными различиями используется членение биосистем на экспериментальные модели со сложными и быстрообратимыми эффектами. При этом подчеркивается, что выраженность быстрообратимых эффектов однозначно определяется содержанием фармакологических агентов в биофазе действия.

Быстрообратимые эффекты. Экспериментальные модели фармакодинамики лигандов ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля, включающие фармакокинетические параметры. Закономерности формирования быстрообратимых эффектов в условиях воздействия лигандов ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля изучаются на целостном организме [1—3, 5, 6, 19, 22, 52, 58, 71, 81—90, 101—108] и в опытах in vitro [4, 7, 13—16, 18, 32, 48, 69, 73, 109—111]. Исследование развития сложных эффектов [7, 25, 35, 59, 60, 70, 90—92, 112—116], как правило, сопровождается выполнением параллельных опытных серий с регистрацией быстрообратимого фармакологического действия соединений. В работах [52, 81—89, 107, 108, 115, 116] элементы фармакокинетики представлены во взаимосвязи с данными фармакодинамики быстрообратимых эффектов.

Основные опыты in vitro осуществляли на нервных клетках [13—16], перфузированных нейронах и участках перфузированных нейронов, содержащих единичные хлорные каналы [13, 14], моллюска (прудовик) [13], земноводных (лягушка) [14], птиц (куриные эмбрионы) [15] (клеточный и субклеточный уровни), а также на нервных тканях: изолированном седалищном нерве [110], перфузированных симпатических ганглиях [32], изолированных сегментах спинного мозга [69, 73, 109], срезах головного мозга [111] крыс. Из сократительных тканей использовались только сегменты подвздошной кишки морских свинок [4, 18]. Данные работы находятся в тесной связи (по методическим подходам и методам анализа) с биохимическими исследованиями кинетики накопления $^{36}Cl^-$ в нервной ткани в условиях влияния лигандов ГАМК-рецептора [26, 48, 61]. Основные методические преимущества указанных работ состоят в возможности непосредственного воздействия ГАМК и ее аналогов на биосистему, изменении ионного состава окружающей и внутренней среды (при перфузии нейронов), а также изучении свойств (выходных показателей) биосистем в условиях концентрационного равновесия лигандов ГАМК-рецептора.

В связи с изложенным практически во всех приведенных исследованиях [4, 14—16, 18, 32, 111] концентрация ГАМК и ее аналогов [6, 18] или агонистов [4, 14, 18] в среде (суперфузате) является динами-

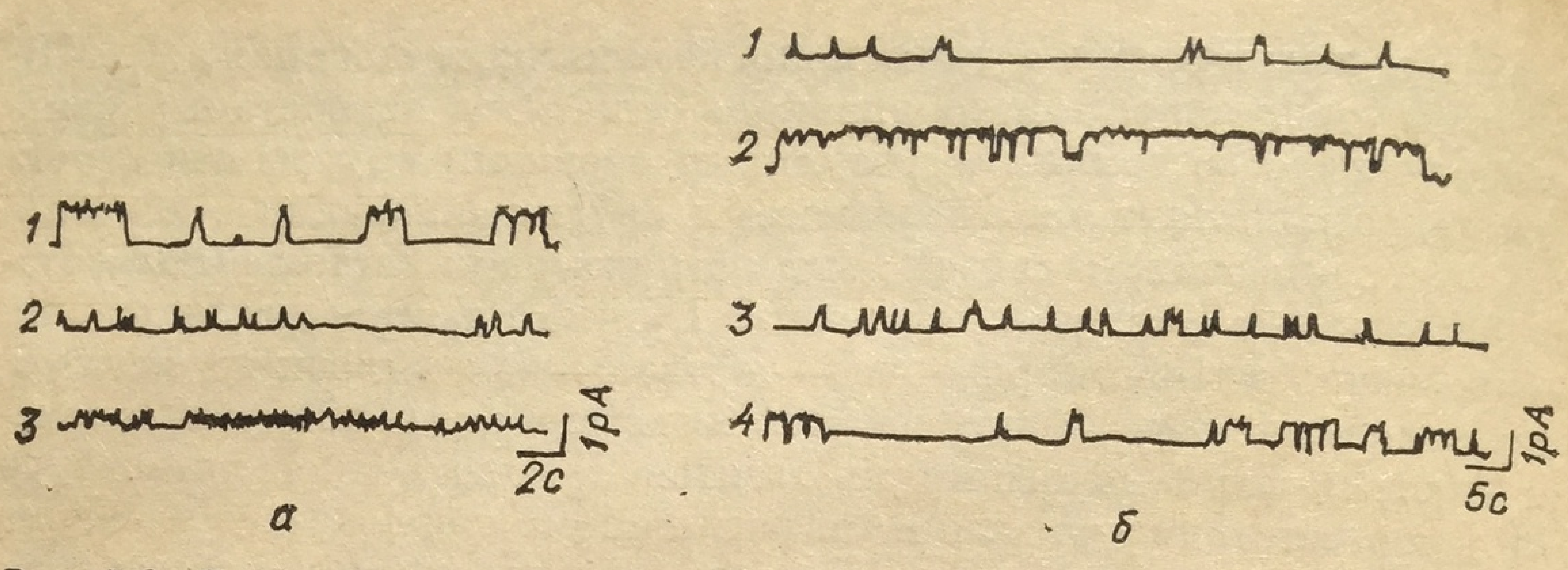


Рис. 5.9. Изменение проводимости единичных хлорных каналов нейронов лягушки:

а — три (1, 2, 3) функциональных состояния канала с различной анионной проводимостью; *б* — влияние фенобарбитала (*2*) и бензодиазепина (*4*) на хлорную проводимость каналов; *1*, *3* — величина хлорного тока в контроле при 50 и 40 мВ [14].

ческим входным воздействием, функция которого является объектом исследования или статистической (фиксированной) величиной, на фоне которой реализуется эффект лигандов ГАМК-рецептора, в отличие от опытов in vivo, где ГАМК является внутренним нефиксированным компонентом биосистем. Все сказанное касается также ионного состава сред, который в работах in vitro используется как непосредственный инструмент исследования функционирования ГАМК, БД-рецепторно-ионофорного ансамбля и его субъединиц [4, 14—16-18, 64, 73, 104]. Изучение влияния экзогенных лигандов (в условиях конформационного равновесия) на функции ГАМК-рецепторного комплекса существенно упрощает методы анализа опытных данных, делает возможным детерминированное описание (в терминах молекулярной фармакологии) основных принципов взаимодействия: ГАМК — лиганды, Cl^- — лиган-

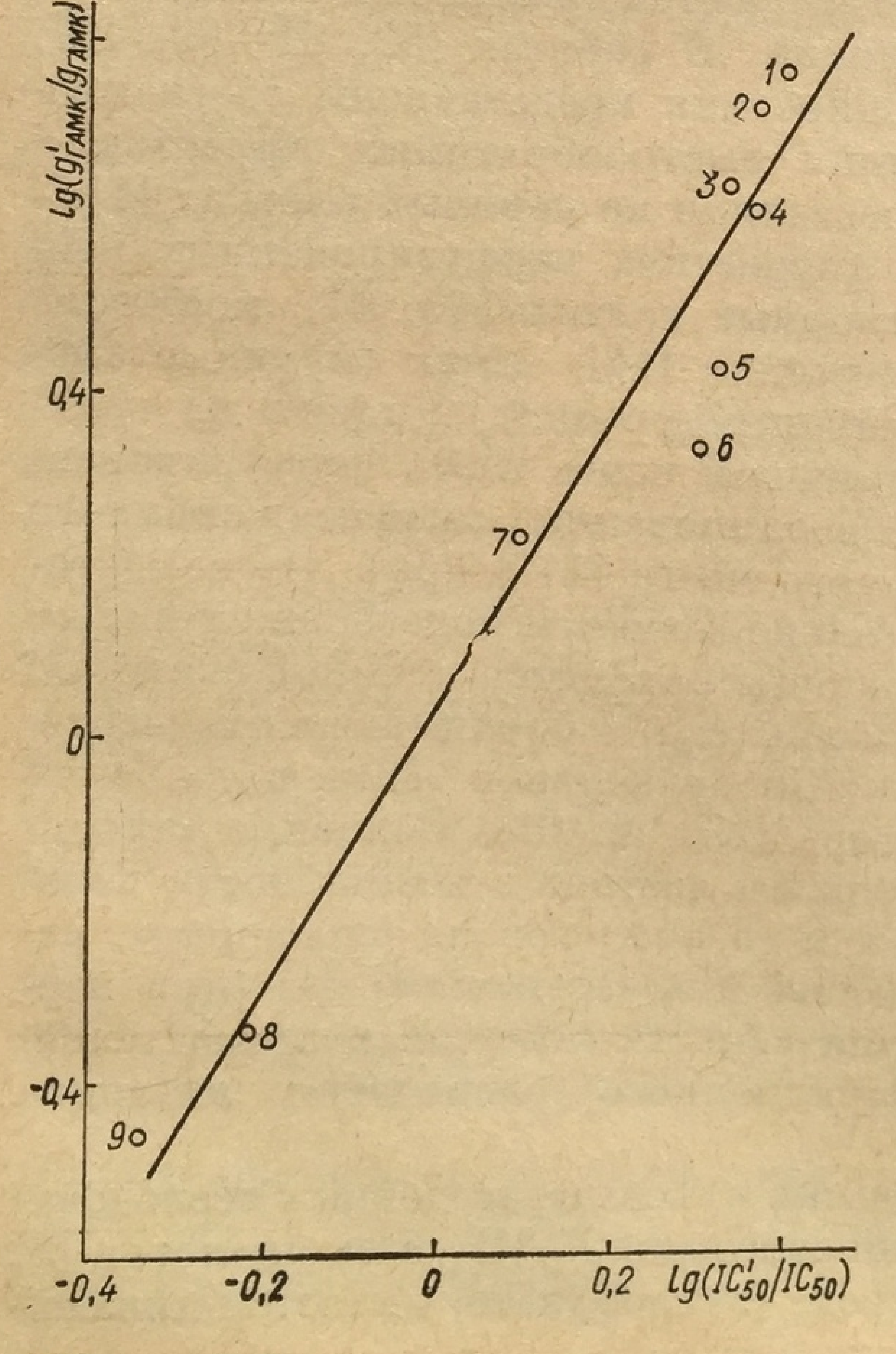


Рис. 5.10. Взаимосвязь изменений проводимости нейрональных мембран ($\lg_{10} g'_{ГАМК}/g_{ГАМК}$) и логарифмов отношения концентрации лигандов (IC_{50}/IC'_{50}), обеспечивающих полувытеснение ^{3}H-ГАМК с рецепторами в отсутствие (IC_{50}) и присутствии (IC'_{50}) мусцимола:

1 — флюнитразепам; *2* — диазепам; *3* — клоназепам; *4* — хлордиазепоксид; *5* — флюразепам; *6* — CL 218972; *7* — Ro 15—1788; *8* — CCM (метиловый эфир β-карболин-карбоксилата); *9* — ДМСМ (метил-4-этил-6,7-диаметокси-β-карболин-3-карбоксилат)

ды и лиганды — лиганды [4, 14—16, 18].

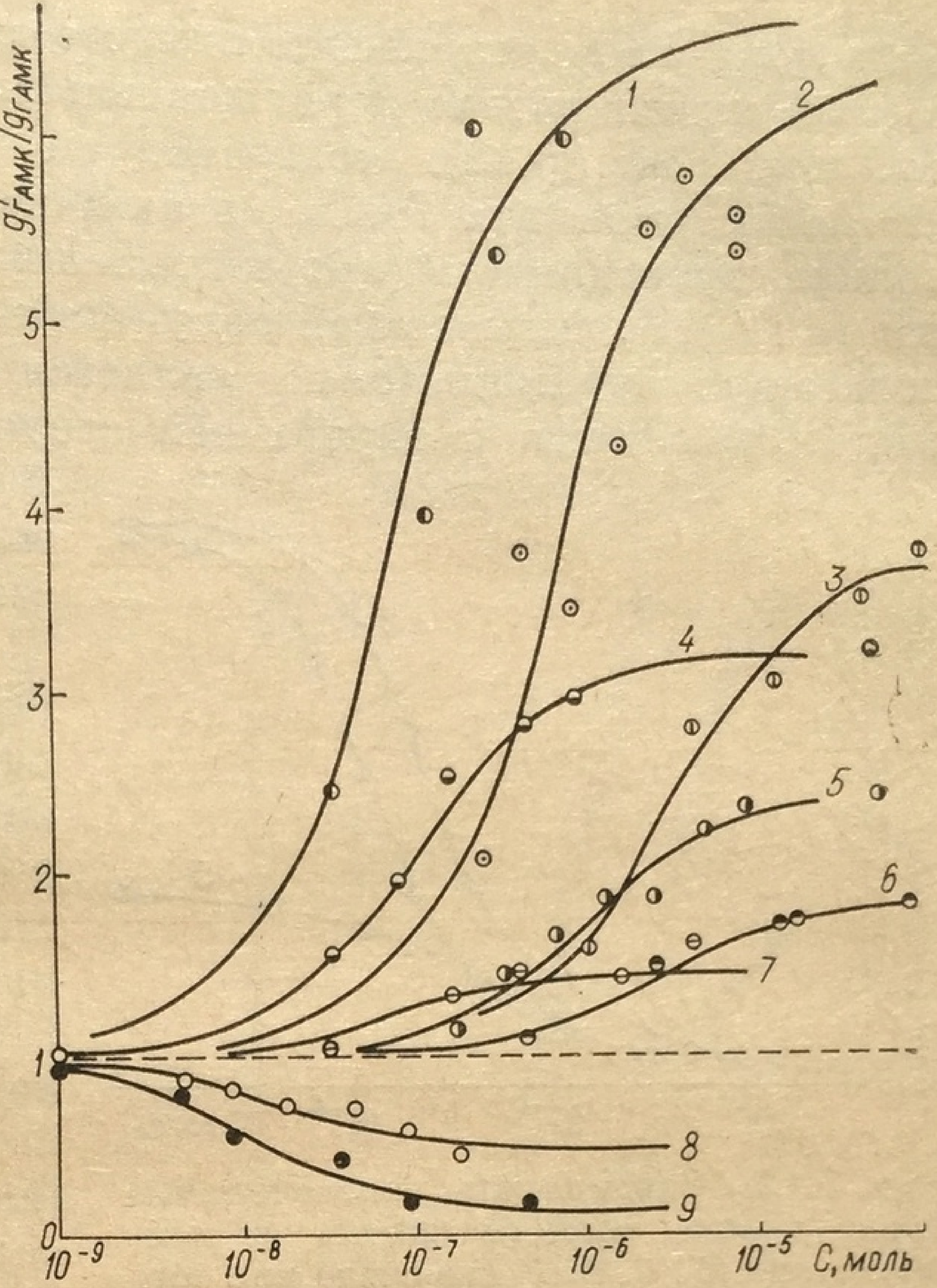


Рис. 5.11. Изменение проводимости нейрональных мембран ($g'_{ГАМК}/g_{ГАМК}$) в результате действия лигандов (C) ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля (*1* — флюнитразепам, *2* — диазепам, *3* — хлордиазепоксид, *4* — клоназепам, *5* — флюразепам, *6* — CL 218 872, *7* — Ro 15—1788, *8* — β-ССМ (метиловый эфир β-карболинкарбоксилата), *9* — ДМСМ (метил-4-этил-6,7-диметокси-β-карболин-3-карбоксилат)

На основе изучения проводимости единичного хлорного канала [14] показано, что ГАМК-БД-рецепторно-ионофорный ансамбль может находиться в трех функциональных состояниях с различной анионной проводимостью (рис. 5.9, *а*). Биохимически также установлено, что диссоциация комплекса ГАМК—ГАМК-рецептор осуществляется трехфазно [48]. Выводы работы [14] позволяют установить однозначное соответствие между тремя конформациями ГАМК-рецептора (с различным сродством к ГАМК) и тремя функциональными состояниями хлорного канала мембран нервных клеток. В указанной работе определен также механизм изменения ионной проводимости хлорных каналов ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля, результируемой экзогенными лигандами, взаимодействующими с различными субъединицами рецепторно-канального ансамбля (рис. 5.9, *б*). Ряд сложных взаимоотношений лигандов БДР (агонисты, антагонисты, обратные агонисты, триазолпиридазины, специфика эффекта которых еще не определена термином), принципы их влияния на мембранную проводимость, вызываемую микроаппликациями ГАМК на нейронах мозга куриных эмбрионов, изучены в работе [15]. В результате исследования установлено, что указанные соединения взаимодействуют с единым типом (а не различными формами) БДР (рис. 5.10). Формы зависимости изменения проводимости нейрональных мембран в результате модификации ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля лигандами БДР единообразны (гиперболы первого порядка), что предполагает мономолекулярный характер взаимодействия всех соединений с бензодиазепиновыми субъединицами ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля (рис. 5.11).

В работе [16] изучено изменение проводимости хлорных каналов в результате воздействия ГАМК, ее антагониста бикукуллина и

блокатора хлорного канала пикротоксина на проводимость ганглионарных клеток задних корешков поясничного отдела спинного мозга лягушки (рис. 5.12). Показано, что бикукуллин — конкурентный антагонист действия ГАМК, а пикротоксин неконкурентно снижает ионную проводимость (при сохранении значения величины концентрации ГАМК, вызывающей полумаксимальный ответ системы). Предполагается, что пикротоксин является блокатором хлорного канала, рецептирующимся с внутренней стороны нейрональной мембраны. В противоположность ему коразол рецептируется с внешней стороны мембран [13].

Рис. 5.12. Зависимость относительной проводимости ионного канала от концентрации (*C*) ГАМК (*1*) в среде при совместном действии различных концентраций ГАМК и бикукуллина (10^{-5} М) (*2*), ГАМК и пикротоксина (10^{-5} М) (*3*) [16]

Описанные принципиальные исследования во взаимосвязи с данными кинетики функциональной десенситизации ГАМК-рецептора [14] в значительной степени углубляют понимание механизмов функционирования ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля. Выводы указанных работ служат категориями (показателями), позволяющими осуществлять структуризацию функциональных исследований in vivo.

Изучение форм взаимодействия лигандов ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля в условиях концентрационного равновесия на сократительных структурах также демонстрирует широкие возможности метода [4, 18]. В частности, показано, что фенобарбитал и пикротоксин оказывают противоположное действие на индуцируемое ГАМК сокращение полосок подвздошной кишки морских свинок, но вместе с тем взаимодействие эффектов фенобарбитала и бикукуллина не может быть охарактеризовано как конкурентное [4] (рис. 5.13). Формализация опытных данных в этой области осуществляется на основании анализа кривых доза — эффект (обычно уравнением Хилла) [11, 14, 16, 69, 73] или время — эффект [14].

Эффекторное моделирование на целостном организме открывает широкие возможности в изучении функции ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля в нормальных условиях и его роли в процессах жизнедеятельности, включая сложные, поведенческие реакции биосистем на изменение условий среды. В то же время в исследованиях in vivo, несущих существенную фармакологическую информацию, зачастую используется функциональный анализ результатов, что несколько ограничивает их возможности в интерпретации закономерностей взаимодействия комплекса и его лигандов в указанных условиях. Без привлечения категорий (сущностей), следующих из результатов детерминированного моделирования, а также без введения в аппарат анализа самостоятельных формальных категорий,

обусловленных спецификой функционирования ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля in vivo, структурирование описания фармакологических данных затруднительно.

В большинстве работ, выполненных in vivo, представлены значения $ЭД_{50}$ по различным показателям фармакологического эффекта лигандов ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля [1, 3, 19, 103—106, 117, 118]. В обсуждении эти величины сопоставляются с результатами радиорецепторных экспериментов [1, 5, 117, 119]. В некоторых работах осуществлен расчет значений коэффициентов

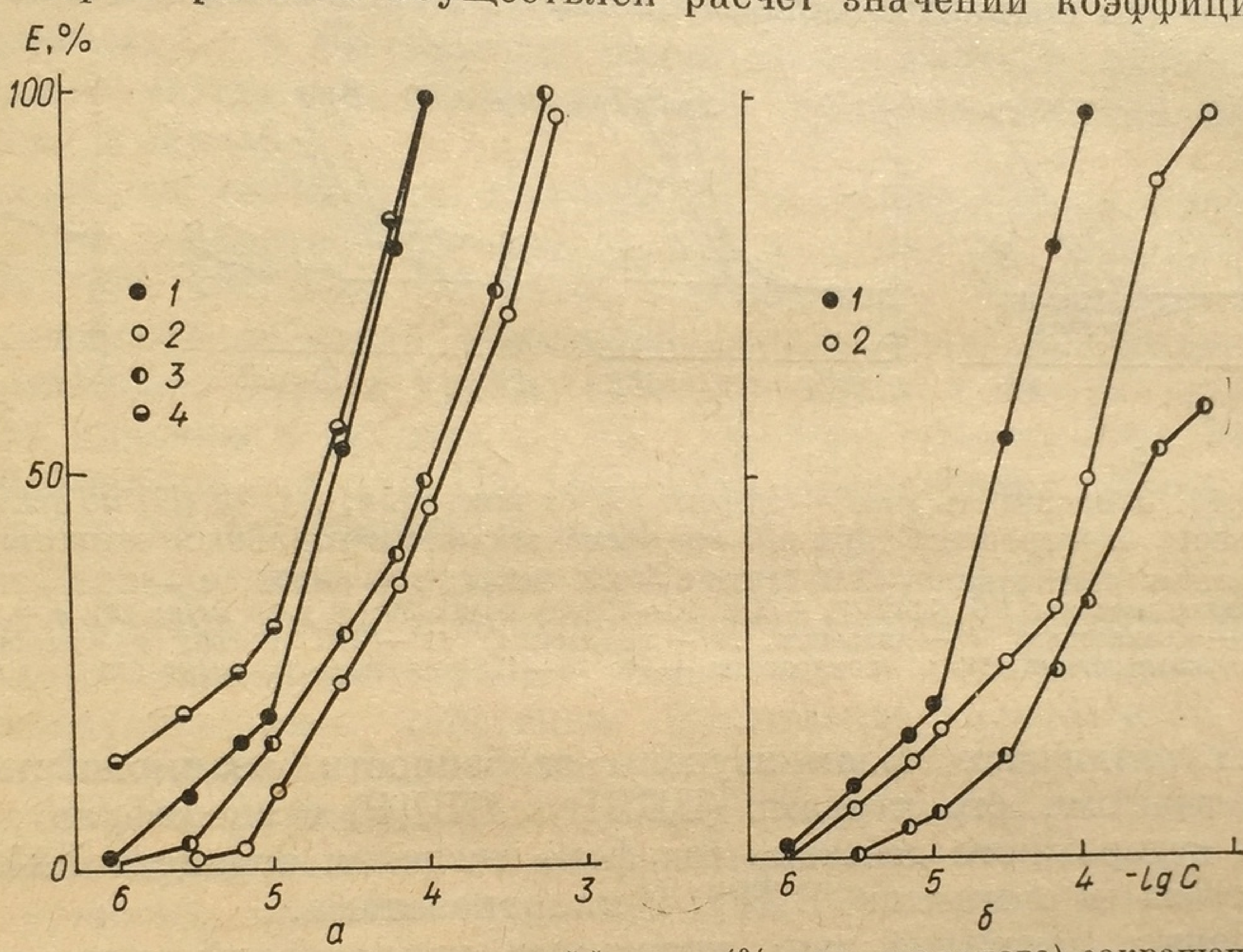


Рис. 5.13. Зависимость величины эффектов (% максимального) сокращения полосок подвздошной кишки морских свинок, индуцированных ГАМК (*1*) в присутствии:

а — бикукуллина (*2*), ГАМК и фенобарбитала (*3*), фенобарбитала и бикукуллина (*4*); *б* — пикротоксина (*1*), фенобарбитала (*2*)

корреляции указанных величин [1, 5, 119]. Возможности исследований такого рода в течение последних пяти лет значительно возросли (при неизмененном аналитическом аппарате) в результате привлечения новых классов соединений (мусцимола [3, 59, 105, 120], β-карболинов и антагониста БД Ro 15—1788 [1, 3, 11, 19, 32, 58, 104, 117, 121—123], триазолпиридазинов [54] и др.) для создания или корреляции судорожных состояний. С другой стороны, применение меченных производных БД Ro 15—1788 и β-карболинов позволило изучить связывание лигандов бензодиазепиновым рецептором in vivo в сопоставлении с данными, полученными в опытах in vitro, и результатами фармакологических исследований [1, 58]. В работах [104] авторы подчеркивают, что β-карболины, используемые для оценки противосудорожных свойств лигандов ГАМК-рецептора, повышают предсказательные возможности исследования, поскольку они специфически воздействуют на бензодиазепиновую субъединицу комплекса. В работе [105] противосудорожный эффект по показателю

миоклонических подергиваний, вызываемых введением мусцимола (3 мг/кг), сравнивается с противосудорожной активностью производных БД (коразол, максимальный электрошок), миорелаксацией в сопоставлении с данными связывания соединений с бензодиазепиновыми рецепторами человека и крысы и терапевтическими дозами.

В острых опытах (регистрация импульсной активности нейронов черной субстанции), на основании данных рецепции и авторадиографии, а также при сравнительном фармакологическом исследовании у жи-

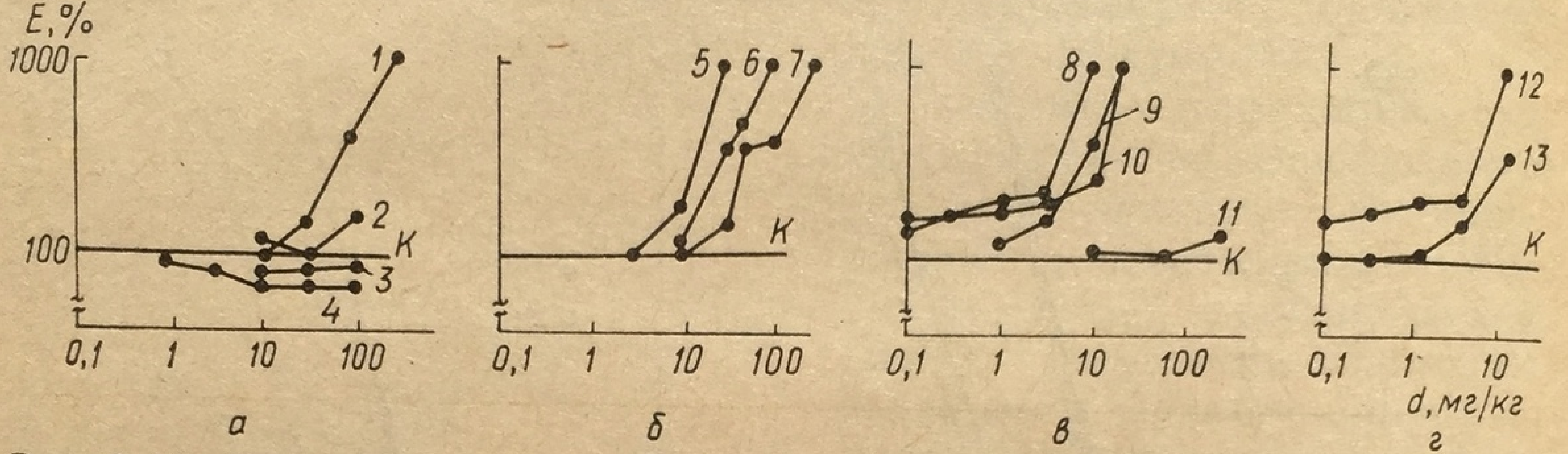


Рис. 5.14. Зависимость доза — эффект (% от контроля; 100 % (К) по тесту максимального электрошока) при в/б введении экспериментальным животным: *а* — обратных агонистов: *1* — FG 7142, *2* — LK 90886, *3* — β-CCE, *4* — CGS 8216; *б* — пероральное введение FG 7142 (*7*) + Ro 15—1788 в дозах 30 (*5*) и 10 мг/кг (*6*); *в* — агонистов: *8* — клоназепам; *9* — диазепам, *10* — лоразепам, *11* — LK 91296; *г* — пероральное введение клоназепама (*12*) и клоназепама + Ro 15—1788 в дозе 10 мг/кг (*13*)

вотных различных видов изучены особенности взаимодействия с субклеточными структурами (ЦБДР и ПБДР) и специфика проявления судорожного действия (на фоне введения агониста ГАМК — мусцимола и лигандов БДР) 4′-хлордиазепама.

Удачное сочетание двух указанных направлений представлено в работе [1]. Изучена взаимосвязь противосудорожной активности (по тестам антагонизма с коразолом и метил-β-карболин-3-карбоксилатом) и способности производных 1,4-бензодиазепина вытеснять ^{3}H-флюнитразепам из БДР.

Предварительно изучено влияние обратных агонистов на поведение животных в условиях конфликтной ситуации, а также по тесту максимального электрошока — их влияние на противосудорожный эффект БД (рис. 5.14). Результаты приведенной работы представляют существенный интерес при обсуждении современных представлений о механизмах взаимодействия агонистов, обратных агонистов и антагонистов БДР [64].

В работах [6, 59, 71] на основании изменений форм зависимостей доза — эффект при совместном введении обсуждается механизм взаимодействия фармакологических эффектов барбитуратов, БД, пикротоксина, аналогов, агонистов и антагонистов ГАМК. При определении зависимостей доза — эффект значения величин «эффектов», представленные в некоторых работах, определены на основании ограниченно сопоставимых критериев [1, 2, 6, 59]. Например, в работе [6] определялись продолжительность судорог (с) и время между введением судорожного агента и началом судорожного состояния

(латентный период, с). Использование обоих критериев оправдано при условии существования пороговой концентрации для судорожного агента, превышение которой в биофазе действия вызывает развитие регистриуемого судорожного состояния. Это положение экспериментально обосновано в работе [98]. Выше нами показана возможность (и необходимость) использования данного показателя ($C_{пор}$) при анализе опытных данных по внутривенной инфузии бикукуллина, коразола, пикротоксина, а в работе [104] — метил-β-карболин-3-карбоксилата. Дополнительным условием правомочности приводимых в [6] величин является обоснование линейной зависимости между вводимыми дозами и соответствующими концентрациями в биофазе.

Теоретические основы взаимосвязи фармакокинетики и фармакодинамики лекарственных препаратов в организме рассмотрены в работах [76, 124, 108, 125—128]. Исследования взаимосвязи фармакологического действия и кинетики содержания препаратов бенздиазепинового ряда в крови, головном мозгу и других органах и тканях описаны в работах [7, 52, 129—144], производных барбитуровой кислоты — в [115, 116, 145—148]. Приведенные работы можно разделить на следующие группы.

1. Исследования кинетики содержания препаратов и их метаболитов в плазме крови и головном мозгу, а также в других органах и тканях экспериментальных животных в сопоставлении с их противосудорожным действием (устранение показателей судорожного припадка, вызываемого введением коразола [81—89, 130, 132—138], бикукуллина [7, 81, 82, 86]) или другими показателями: эффектом вращающегося стержня, нарушением координации движений, временем плавания животных [138, 139], потенцированием гексаналового сна (тест бокового положения) [129, 138], изменением спонтанной двигательной активности, агрессивным поведением, анальгетическим действием [138], снотворным эффектом барбитуратов [148], противосудорожным эффектом (электростимуляция) и светочувствительностью [115, 116].

2. Клиническое исследование взаимосвязи содержания бенздиазепинов в плазме крови и их лечебного действия [131, 140—144, 149].

Взаимосвязь фармакокинетических данных и противосудорожного действия бенздиазепинов изучается по двум экспериментальным моделям [70]. Согласно одной из них определяется степень защиты животных от судорожного действия коразола, вводимого до, одновременно или после введения БД. Коразол при этом вводят подкожно в дозе, превышающей 95 % вероятности развития регистрируемых компонентов судорожного припадка. Эффект регистрируется в альтернативной форме. Одновременно устанавливается содержание БД в органах и тканях животных [133, 136]. Экспериментальная модель позволяет оценивать ориентировочные значения параметров динамики противосудорожного действия препаратов (время соотнесения действия к концентрации определяется интервалом ± 15 мин).

В работе [133] определена динамика противосудорожного действия диазепама (2,5 мг/кг, введение внутрь) у мышей. Показано, что максимальная противосудорожная активность регистрируется через 0,5—1,0 ч после введения, а достоверное противосудорожное действие сохраняется в течение 24 ч опыта. Авторы исследовали содержание диазепама и его метаболитов — дезметилдиазепама, метилоксазепама и оксазепама, а также общего радиоактивного материала в организме мышей. Предполагается, что противосудорожная активность сопоставима с распределением (уровнем содержания) дезметилдиазепама и оксазепама в головном мозгу животных. Взаимосвязь фармакокинетики и фармакодинамики авторами математически не описывалась. Дискутируется достоверность влияния подкожного введения коразола на распределение БД в организме мышей. Введение хлордиазепоксида (20 мг/кг внутрь) вызывало развитие противосудорожного эффекта в диапазоне 0,5—1,0 ч, и достоверный эффект наблюдался в течение 24 ч опыта [136]. Авторы осуществили фармакокинетическое исследование по схеме, аналогичной приведенной в работе [133]. Указано соотношение содержания бензодиазепинов (плазма/ткань), проводится параллель (без математического обоснования) между противосудорожной активностью, определяемой введением хлордиазепоксида, и содержанием N_1-дезметильного метаболита в ткани.

В исследованиях [134] и [137] определяли $ЭД_{50}$ коразола, вводимого в/б, на фоне диазепама (5 мг/кг внутривенно) у мышей, крыс [137] и морских свинок [134]. Отмечены значительные межвидовые различия в противосудорожном действии диазепама [137]. Содержание дезметилдиазепама более высокое у мышей, чем у крыс, определяло противосудорожный эффект и время достоверного противосудорожного действия у всех видов животных. В работе [130] сопоставлено содержание диазепама и его метаболитов в головном мозгу взрослых и новорожденных крыс, а также морских свинок. Авторы параллельно исследовали скорость метаболизма препарата микросомной фракцией гепатоцитов, уровень содержания исходного соединения и его метаболитов в головном мозгу, уровень коразола в головном мозгу, выраженность противосудорожного действия диазепама. Сделан вывод, что новорожденные животные более чувствительны к противосудорожному действию диазепама. Скорость метаболизма препарата (на единицу веса печени) у взрослых животных выше. Фармакокинетика бромазепама и его метаболитов в плазме крови и головном мозгу мышей формализована одночастевой моделью со всасыванием [132]. Параллельно представлены значения $ЭД_{50}$ бромазепама и его метаболитов при внутривенном и пероральном введении. Время полусуществования бромазепама определено как 18 мин, его 3-оксиметаболита — 4,1 ч, максимум содержания 3-оксиметаболита достигается через 1 ч времени опыта. Кинетика содержания последнего сопоставима с динамикой противосудорожного эффекта. Значительные различия в длительности противосудодорожного действия диазепама, оксазепама и пиназепама отмечены в статье [138]. Сопоставление кинетики распределения диазепама

и пиназепама осуществлено на основании отдельной опытной серии. Еще более проблематично (условно) определение взаимосвязи параметров распределения и других фармакодинамических показателей [129, 139, 140, 148].

В работе [150] сопоставлены скорость и полнота поступления феназепама, содержание исходного соединения в плазме крови крыс с выраженностью миорелаксации и анксиолитическим эффектом препарата. Отмечена положительная корреляция между значениями величины постоянных скорости поступления феназепама и его анксиолитическим эффектом. Сравнение фармакологического действия и фармакокинетического профиля в плазме крови в клинических исследованиях проводится по нескольким (непрямым) параметрам у здоровых добровольцев [141, 143] или пациентов с анксиозным синдромом [131, 140, 142]. В первом случае можно говорить только об исследовании побочных проявлений действия препаратов (в норме), во втором (патология) — системы адекватны, динамичны, частично управляемы и проблематичным является определение (количественное) глубины патологических состояний.

Формализация фармакокинетических данных осуществлялась на основании одночастевой [149], одночастевой со всасыванием и двухчастевой кинетических схем [142]. Исследованы содержание диазепама и его метаболитов в плазме крови здоровых добровольцев и пациентов, определено значительное влияние присутствия дезметилдиазепама в плазме крови на формирование фармакологического эффекта [131, 140—143]. Существенные половые различия в связывании диазепама с белками плазмы крови, отмеченные в работе [144], также сопоставимы с различиями в выраженности действия препарата. В исследовании [131] сравниваются уровни содержания диазепама, медазепама, хлордиазепоксида и их метаболитов в организме пациентов, а также оказываемое этими соединениями физиологическое действие. Многофакторный и ранговый корреляционный анализ [131, 140, 141] позволил установить достоверную взаимосвязь не только между фармакокинетическими показателями и физиологическим действием, но и более сложные формы зависимостей. Установлена взаимосвязь между эффектом, способом введения и кинетическими параметрами [141], а также между содержанием метаболитов, исходных соединений и эффектов [131]. Приведенные работы отражают попытки решения задачи с использованием методических подходов, не позволяющих отнести регистрируемый эффект к конкретному времени опыта, а следовательно, и конкретному содержанию (в это время) соединений в тест-объекте. Для приведенных работ характерно использование принципиально различных форм учета эффектов (альтернативный) и содержания исследуемых веществ (градуированный), отсутствие определения взаимосвязи содержания соединений в тест-объекте и биофазе действия, соотнесения тест-объекта и биофазы действия к конкретным областям обмена (отсекам) кинетических схем распределения, отсутствие функционального описания зависимостей доза — концентрация — эффект, с учетом указанных положений.

Более перспективным направлением в моделировании быстрообратимых эффектов in vivo является внутривенная инфузия лигандов ГАМК-рецептора судорожных агентов (пикротоксина, бикукуллина, коразола и др.) на фоне введения антагонистов (БД, барбитураты, мусцимол и др.) [70, 81—89]. Регистрируемые минимальные эффективные дозы могут быть соотнесены к конкретному (± 0,5—1,0 мин) времени опыта, учтены в альтернативной и градуированной формах. Аналогичными преимуществами обладают методы регистрации эффекта предупреждения максимального электросудорожного припадка [1, 2, 70] и исследования моделей с индуцированными судорожными состояниями [7, 115, 116]. Как указывалось выше, регистрация показателей судорожного припадка (минимальные эффективные дозы) при инфузии коразола не зависит от скорости его введения [98]. Нами было отмечено, что значения величин регистрируемых показателей судорожного припадка также инвариантны (в широких пределах) скорости введения коразола, бикукуллина и пикротоксина, но не тиосемикарбазида. В работе [104] отмечена возможность эффективного использования внутривенной инфузии метил-β-карболин-3-карбоксилата для определения фармакологической активности агонистов (антагонистов) БДР. Концентрация судорожного агента в растворе, а следовательно, и объем вводимых растворов также несущественно влияют на значения ДКТС и ДТЭ. Например, через 1 ч после введения мышам барбитала натрия (160 мг/кг в/б) его в 1%-ном растворе ДКТС и ДТЭ коразола составили 183,5 ± 14,2 и 457,0 ± 27,3 мг/кг, а при введении его в 2 %-ном растворе — 185,1 ± 14,5 и 443,4 ± 23,3 мг/кг.

Следующий этап, предшествующий исследованию взаимосвязи фармакокинетики и фармакодинамики быстрообратимых эффектов,— определение формы зависимости доза — концентрация в плазме крови (тест-объекте большинства работ [131, 140, 143, 150, 151] и биофазе действия (головном мозгу), а также отношения концентраций плазма крови/головной мозг в различных временных интервалах исследования.

В клинической практике получить информацию об истинной концентрации транквилизатора в биофазе весьма затруднительно, поэтому определение содержания проводят в крови пациента, допуская наличие линейного соотношения между плазмой крови и биофазой эффекта [76, 101, 124]. В экспериментальных исследованиях на животных появляется редкая возможность изучения физиологического действия препарата на основе данных о его концентрации в органе-мишени. Фармакокинетическое моделирование процессов распределения между кровью и тканью-мишенью в таком случае дает возможность управлять лечебным эффектом, изменяя режим дозировки, на основании изучения индивидуальных фармакокинетических параметров пациента. Следовательно, представленный материал можно трактовать значительно шире, чем в настоящей работе, учитывая прикладные аспекты проблемы.

Форма зависимости доза — концентрация для плазмы крови и головного мозга мышей при введении животным бромазепама представ-

лена в работе [132] (рис. 5.15). Как видно из опытных данных, уже через 2 мин после введения препарата уровень радиоактивности в плазме крови и головном мозгу линейно зависит от вводимых доз. Отношение плазма крови/головной мозг составляет 1 : 1 в диапазоне 1 мин — 6 ч для феназепама, его 3-оксиметаболита и общего радиоактивного материала. Влияние способа введения и формы препарата (в частности, количества фосфолипида в липосомальной форме феназепама: 10 (А); 25 мг/кг (Б) и 50 мг/кг (В)) на содержание общего радиоактивного материала в головном мозгу мышей через 1 ч после введения ^{14}C-феназепама линейное и соответствует зависимости доза — концентрация (рис. 5.16).

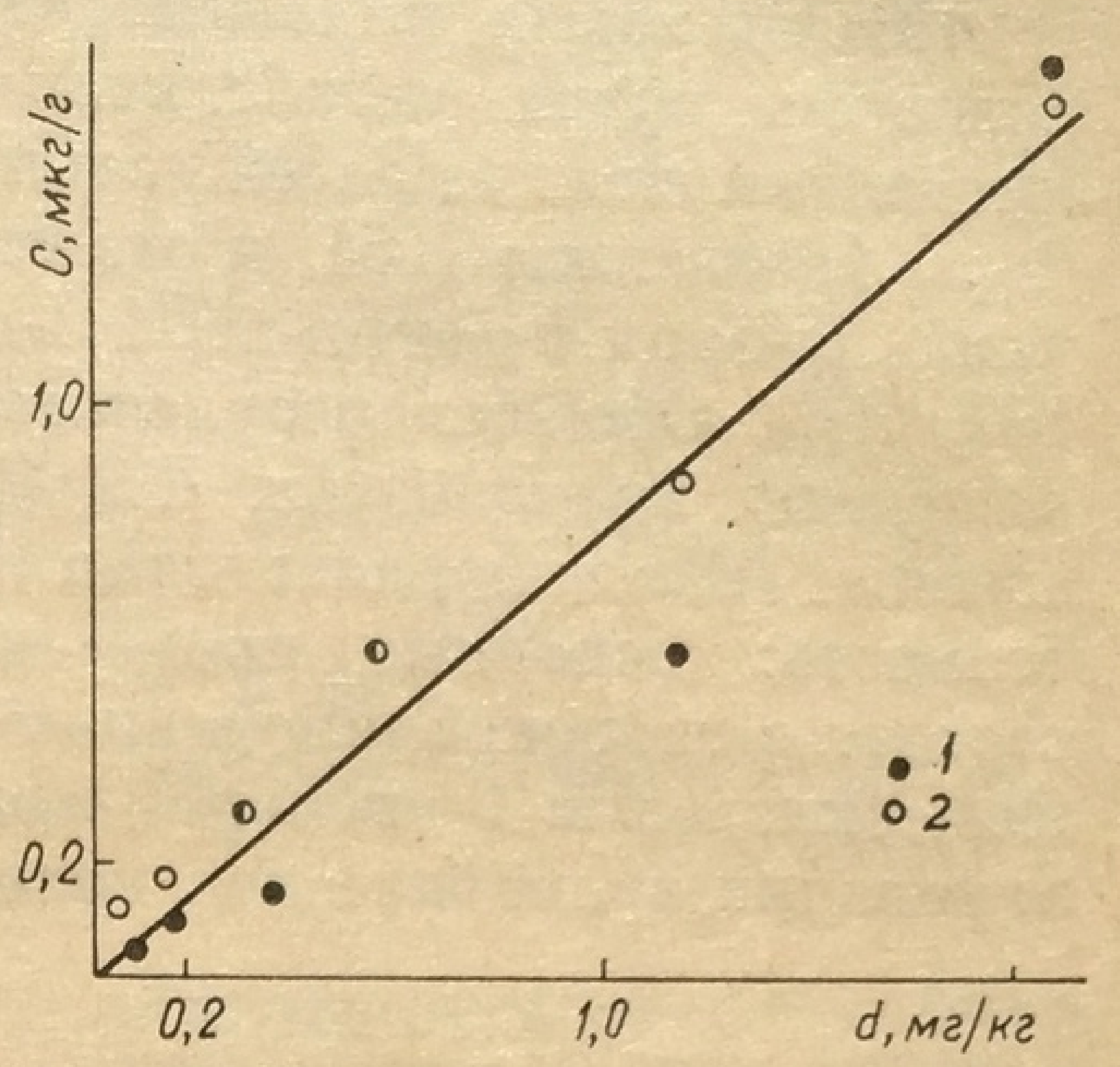


Рис. 5.15. Соотношение содержания ^{14}C-бромазепама в головном мозгу (*1*) и плазме крови (*2*) (*C*) мышей через 1 мин после в/в введения им препарата в различных дозах

В исследованиях [133, 136] приведены значения величин отношений содержания общей радиоактивности плазма крови — головной мозг, определяемые в течение суток после введения мышам диазепама и хлордиазепоксида, составившие 1,2—2,0 и 0,9.

Необходимо отметить, что целесообразность моделирования на основании содержания общей радиоактивности в плазме крови и головном мозгу нуждается в дополнительном обосновании ввиду того, что производные БД в организме подвергаются интенсивной биотрансформации и продукты метаболизма могут обладать различной фармакологической активностью. В связи с этим оценка содержания общей радиоактивности при разных способах введения различных доз (рис. 5.17) является в общем случае начальным этапом исследования.

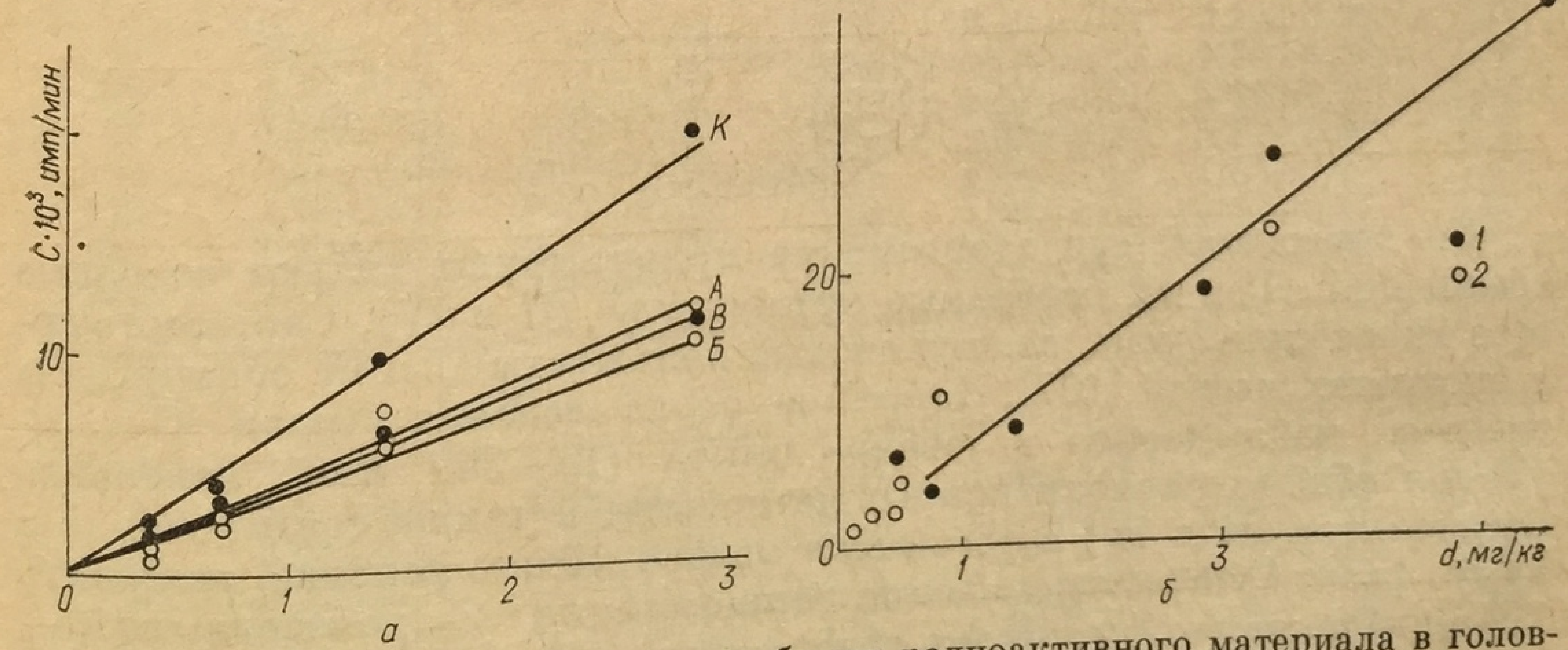


Рис. 5.16. Зависимость содержания общего радиоактивного материала в головном мозгу мышей от формы и способа введения ^{14}C-феназепама:

а — в твиновой суспензии (К) и липосомах (А, Б, В — с различным (соотвественно 10, 25, 50 мг/кг) содержанием фосфолипидов); *б* — в/б (*1*) и внутривенного (*2*) введения препарата в липосомах

Ранее [107, 152] нами была предложена схема определения, состоящая из последовательных этапов: нахождение общей радиоактивности; основных групп метаболитов (суммы свободных, водорастворимых, связанных с белками пробы и остаточных); исходного соединения и его свободных метаболитов.

Исследования кинетики распределения общей радиоактивности, основных групп метаболитов и индивидуальных соединений осуществлены нами у мышей разных линий [153] при введении различных форм феназепама [154] и его структурного аналога — бромнордиазепама (7-бром-5-фенил-1Н-1,3-дигидро-1,4-бенздиазепина-2-она) [88, 152, 166]. Обобщая результаты изучения фармакокинетики N_1-незамещенных производных БД (феназепама, бромнордиазепама, бромазепама [132] и нордиазепама [155]), можно отметить следующую особенность: основные процессы метаболизма в организме мышей состоят в гидроксилировании гетерокольца в положении «3», дальнейшем окислении 3-оксипроизводных до хиназолин-2-онов, гидроксилировании ароматических колец молекул БД:

Схема 1

	R^1	R^2
феназепам	Br	C_6H_4Cl
бромнордиазепам	Br	C_6H_5
нордиазепам	Cl	C_6H_5
бромазепам	Br	C_5H_3N

Во внутренней среде организма присутствуют только исходные соединения (I) и их свободные метаболиты (II и IV). Соответствующие хиназолин-2-оны, глюкуроновые конъюгаты II и IV обнаружены в экскретах мышей [107]. Например, после введения мышам ^{14}C-бромазепама, наблюдаемое в течение опыта (10—360 мин) изменение уровня общего радиоактивного материала, а также соединения I и метаболитов (II и IV) в организме мышей можно условно разделить на две фазы: быстрого изменения концентрации ^{14}C-производных (10—120 мин) и стационарного их содержания (120—360 мин) в головном мозгу и плазме крови животных (табл. 5.4, рис. 5.18). Фармакокинетические кривые исследуемых соединений также можно разделить на две группы. Для содержания общей радиоактивности, суммы сво-

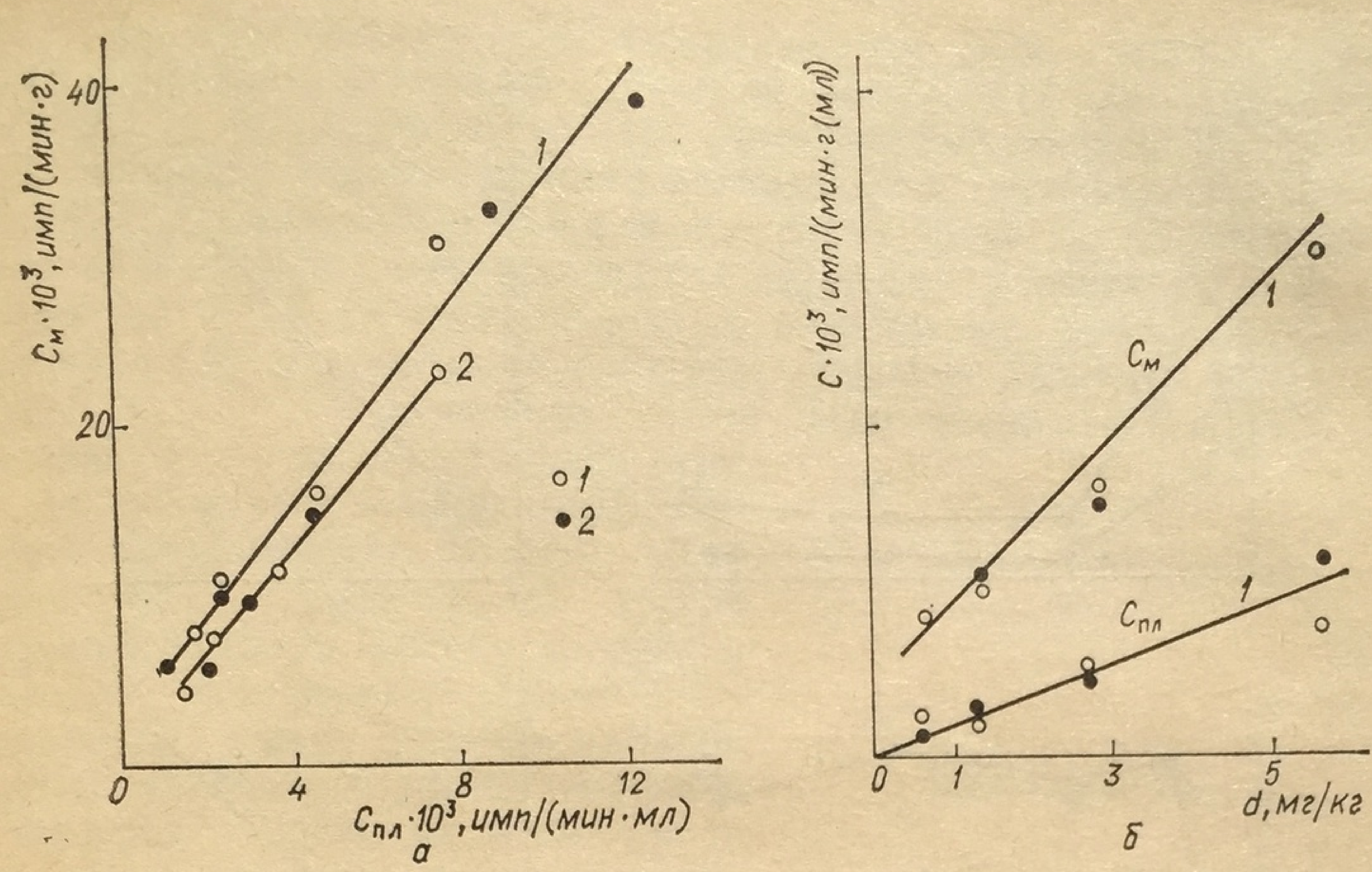


Рис. 5.17. Соотношение содержания общей радиоактивности (*1*) и суммы свободных метаболитов (*2*) в плазме крови ($C_{пл}$) и головном мозгу ($C_м$) через 1 ч после в/в (*1*) и в/б (*2*) введения мышам возрастающих доз 2-^{14}C-1,2,4,5-тетрагидрофеназепама (*а*) и зависимость $C_{пл}$ и $C_м$ от вводимых доз соединений (*б*)

Таблица 5.4. **Содержание, имп/(мин · г), общей радиоактивности (А), суммы свободных (Б), водорастворимых (В) и связанных с белками биологических субстратов (Г) метаболитов бромнордиазепама в плазме крови (1) и головном мозгу (2) мышей, а также отношение этих величин (3) на протяжении опыта после в/б введения препарата в дозе 1,4 мг/кг ($M \pm m$, $n = 6$)**

Продолжительность опыта, мин	А · 10³			Б · 10³		
	1	2	3	1	2	3
10	2,36±0,12	7,89±0,62	3,34	2,42±0,13	5,24±0,34	2,17
20	3,56±0,35	12,11±1,66	3,40	3,68±0,12	9,31±1,16	2,53
30	3,28±0,34	9,68±1,35	2,95	2,53±0,31	6,88±0,79	2,72
60	2,41±0,25	8,05±0,51	3,34	2,52±0,24	5,80±0,19	2,30
120	1,76±0,11	6,00±0,28	3,41	1,35±0,13	4,39±0,22	3,25
240	1,90±0,11	6,10±0,98	3,21	1,33±0,23	4,30±0,17	3,23
360	2,18±0,16	5,95±0,42	2,73	1,75±0,21	3,96±0,26	2,26
	В · 10³			Г · 10³		
10	0,51±0,13	1,01±0,11	1,98	0,20±0,05	1,91±0,54	9,55
20	0,55±0,17	1,55±0,26	2,82	0,19±0,03	1,94±0,24	10,21
30	0,58±0,12	1,46±0,24	2,52	0,13±0,03	1,68±0,39	12,92
60	0,50±0,10	1,09±0,12	2,18	0,47±0,12	1,21±0,13	2,57
120	0,24±0,06	0,86±0,12	3,58	0,17±0,05	1,13±0,09	6,65
240	0,31±0,07	0,88±0,12	2,84	0,32±0,08	1,22±0,16	3,81
360	0,23±0,06	0,65±0,10	2,83	0,31±0,06	1,09±0,10	3,52

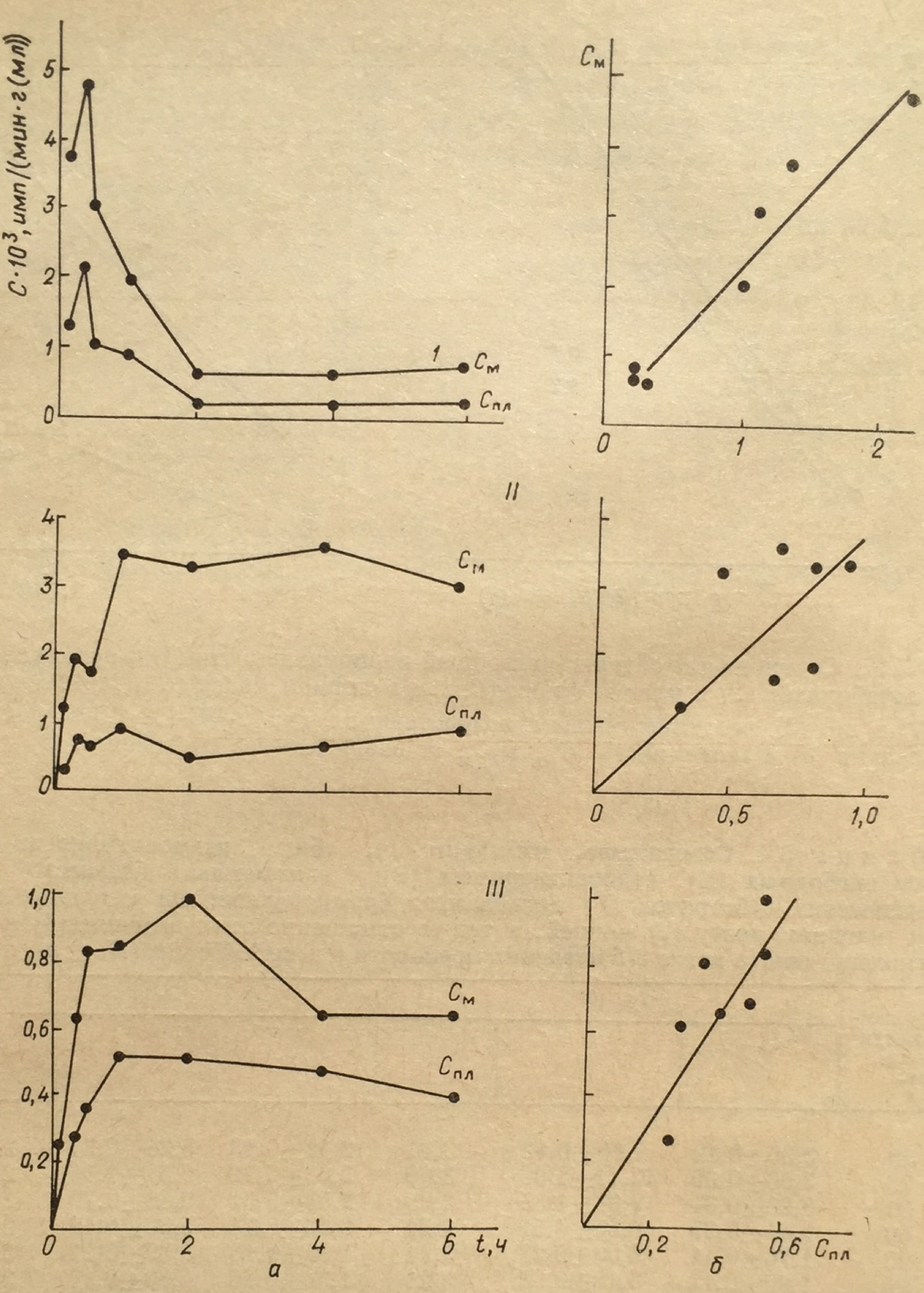


Рис. 5.18. Кинетика (*а*) и соотношение (*б*) содержания бромнордиазепама (*I*), его 3-оксиметаболита (II) и суммы продуктов ароматического гидроксилирования (III) в головном мозгу ($C_м$) и плазме крови ($C_{пл}$) мышей при в/б введении ^{14}C-1 в дозе 1,4 мг/кг

бодных метаболитов и соединения I характерны достижение максимальной концентрации через 20 мин и в дальнейшем (20—120 мин) ее интенсивное снижение. Для соединений II и IV, водорастворимых и связанных с белками ^{14}C-метаболитов, отмечено ее интенсивное возрастание в интервале 10—120 мин и сохранение стационарного уровня в дальнейшем. Сходный характер кривых при изучении фармакокинетики бромнордиазепама (табл. 5.4, рис. 5.18), феназепама

[107, 153], бромазепама [132] и нордиазепама [135], свободных, водорастворимых и связанных с белками метаболитов феназепама наблюдался в исследовании [107] и описан ферментативной кинетической моделью. Анализ кинетики распределения бромазепама и его 3-оксиметаболита осуществлен на основании линейных кинетических схем [132]. Форма наблюдающихся процессов распределения нордиазепама и его 3-оксипроизводного аналогичны, однако фармакокинетический анализ их не проведен. Основные различия состоят в более медленном протекании первой фазы распределения (180 и 360 мин) у феназепама и нордиазепама по сравнению с бромнордиазепамом и более быстром (60 мин) — для бромазепама. Характерной чертой фармакокинетики бромнордиазепама является стационарное отношение содержания общей радиоактивности, суммы свободных, водорастворимых, связанных с белками метаболитов, исходного и 3-оксипроизводного соединений, а также суммы продуктов окисления ароматических колец молекулы бромнордиазепама. Значения величин постоянных распределения (головной мозг — плазма крови), различные для исходных соединений и их метаболитов, инвариантны относительно времени опыта и концентраций указанных соединений. Это предполагает высокую скорость обратимых процессов перераспределения (плазма ⇄ головной мозг) по сравнению с процессами поступления, метаболизма и выделения.

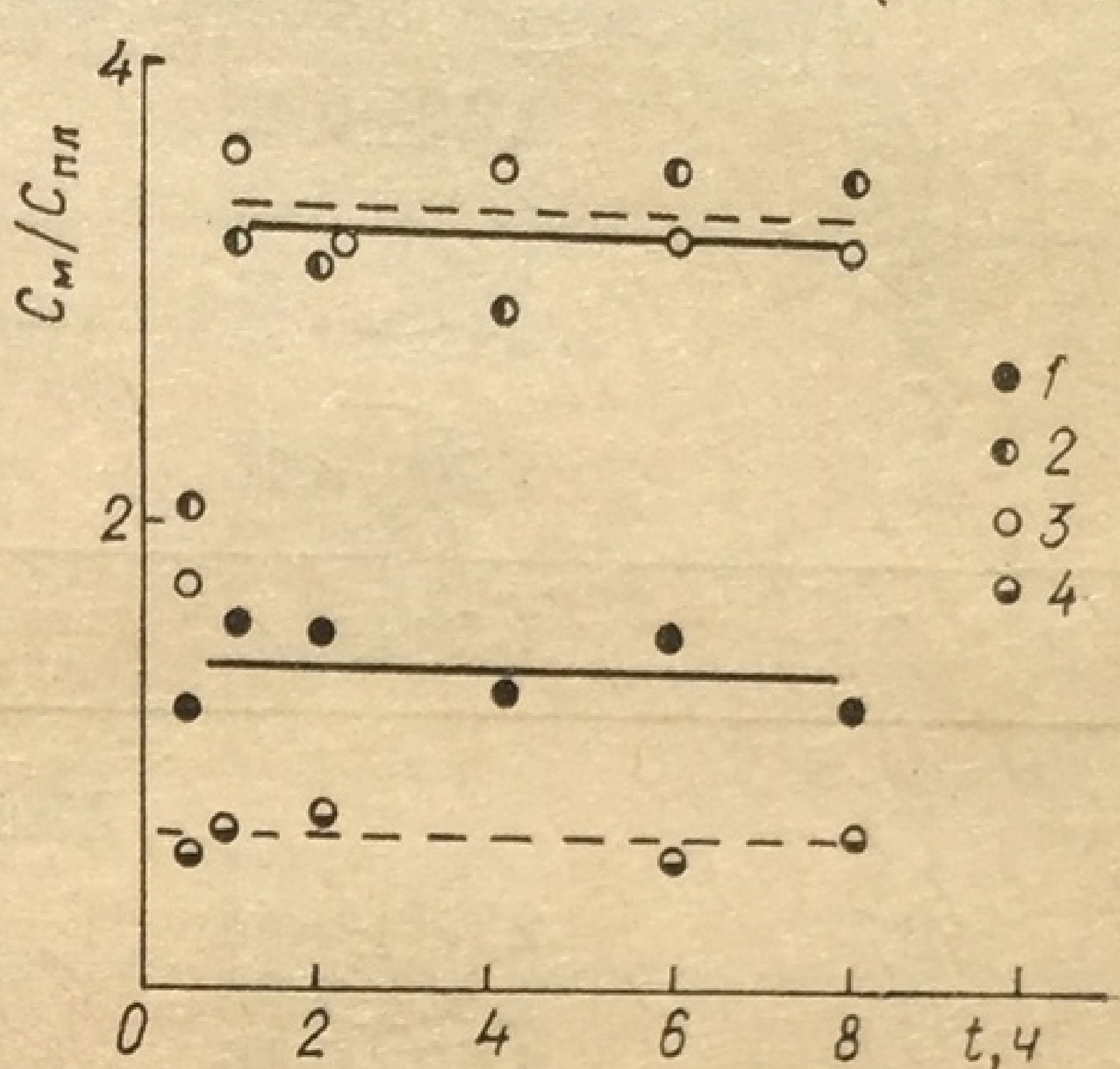


Рис. 5.19. Соотношение концентраций в головном мозгу и плазме крови камазепама (*1*), метилоксазепама (*2*), оксазепама (*3*) и метаболита M_5(*4*) в зависимости от времени опыта после введения крысам камазепама в дозе 20 мг/кг

В исследовании [52] изучена кинетика метаболизма камазепама в организме крыс. Соединение в организме животных подвергается интенсивному метаболизму с образованием продуктов с различной фармакологической активностью. Отношение содержания плазма крови — головной мозг исходного препарата и его биотрансформации (рис. 5.19) стационарно в диапазоне 1—8 ч времени опыта. Отклонения отмечены только через 0,5 ч (начало измерений) для оксазепама и метилоксазепама. Такая же закономерность обнаружена в проведенных нами ранее исследованиях фармакокинетики феназепама у крыс при однократном и длительном введении [107], мышей различных линий и гибридов [153] (табл. 5.5).

Следует отметить, что для продуктов ароматического гидроксилирования бромнордиазепама и феназепама значения постоянных распределения ниже, чем таковые для исходных соединений и их 3-оксиметаболитов (рис. 5.18). Нами не обнаружено достоверной корреляции значений указанных постоянных для бромазепама, феназепама и их метаболитов, а также оксазепама и метилоксазепама с расчетными и опытными величинами логарифмов их распределения в системе

Таблица 5.5. Величины постоянных распределения ^{14}C-феназепама (I), его 3-оксиметаболита (II) и продуктов гидроксилирования ароматических колец молекулы (III) в головном мозгу и плазме крови $C_м/C_{пл}$ экспериментальных животных при введении им препарата в различных формах

Продолжительность опыта, ч	$C_м/C_{пл}$			
	общей радиоактивности	I	II	III
Мыши линии BALB/c, введение в твиновой суспензии (14 мг/кг)				
0,5	1,47±0,10	0,78±0,10	0,32±0,08	0,32±0,074
1	1,47±0,20	1,63±0,22	0,93±0,08	1,46±0,34
2	1,38±0,47	1,73±0,17	1,16±0,17	0,38±0,14
3	1,25±0,17	1,38±0,23	1,07±0,20	0,59±0,06
5	—	1,59±0,39	1,12±0,29	0,65±0,07
6	1,10±0,16	2,09±0,49	1,56±0,41	0,43±0,20
	1,30±0,56	1,53±0,73	1,03±0,61	0,64±0,43
Мыши линии CBA				
0,5	2,30±0,44	2,03±0,29	1,91±0,66	0,92±0,19
1	1,81±0,26	1,98±0,24	0,95±0,21	0,94±0,12
2	1,50±0,16	1,79±0,30	1,60±0,17	0,95±0,21
3	1,37±0,21	1,71±0,22	1,73±0,27	1,00±0,16
6	1,11±0,20	1,88±0,35	1,62±0,17	1,39±0,18
	1,62±0,61	1,88±0,63	1,56±0,34	1,04±0,39
Мыши линии C57BL/6				
0,5	—	1,77±0,43	1,13±0,46	0,89±0,15
1	1,87±0,32	1,49±0,18	1,97±0,34	0,91±0,12
2	—	—	1,17±0,22	0,50±0,10
3	1,30±0,17	1,35±0,27	0,97±0,23	0,88±0,23
6	1,43±0,18	1,72±0,38	0,87±0,15	0,59±0,18
	1,53±0,40	1,58±0,66	1,22±0,67	0,63±0,36
Мыши линии CBA, введение в липосомах (1,4 мг/кг)				
0,17	1,53±0,22	—	1,27±0,37	0,48±0,14
0,5	1,26±0,13	—	3,89±0,83	0,49±0,10
1	2,02±0,38	—	1,49±0,44	0,52±0,15
2	1,40±0,25	—	5,80±1,60	0,56±0,05
3	1,09±0,05	—	3,00±0,29	0,58±0,25
4	1,24±0,15	—	6,78±1,78	0,78±0,11
5	0,87±0,11	—	3,32±1,38	0,55±0,07
6	1,05±0,11	—	1,20±0,16	0,50±0,07
	1,31±0,56		3,34±2,93	0,56±0,37
Крысы линии Вистар, однократное введение (14 мг/кг)				
0,25	1,36±0,39	—	—	—
0,5	0,82±0,08	2,77±0,25	1,53±0,36	

Продолжительность опыта, ч	$C_м/C_{пл}$			
	общей радиоактивности	I	II	III
1	1,00±0,05	4,86±0,81	2,33±0,46	
3	0,55±0,17	5,0±0,03	1,26±0,09	
12	0,39±0,07	1,67±0,19	—	
24	0,23±0,05	—	—	
	0,71±0,44	3,57±0,87	1,69±0,59	
	Крысы линии Вистар, многократное введение			
0,5	1,26±0,32	2,33±0,69	1,21±0,38	
3	1,05±0,18	3,62±0,67	2,60±0,61	
12	1,00±0,32	4,00±1,20	4,01±1,39	
24	0,50±0,06	—	—	
	0,95±0,49	3,32±1,54	2,60±1,56	

октанол — вода, фармакологической активностью и сродством к БДР [9, 107, 119, 156, 157]. Следовательно, эти параметры (характеризующие фармакокинетическую фазу взаимодействия лекарства и организма), наряду с данными, учитывающими интенсивность метаболизма, фармакологическими и радиорецепторными экспериментами, являются самостоятельными показателями в фармакологическом прогнозировании.

Приведенные выше экспериментальные результаты и закономерности распределения производных БД в организме животных позволяют при формализации данных распределения соединений и их метаболитов в головном мозгу и плазме крови описывать с соответствующими коэффициентами в качестве единого отсека кинетической схемы [158]. Данное заключение следует учитывать при решении вопросов оптимизации терапевтического применения транквилизаторов на основании изучения их фармакокинетики.

Следующим, необходимым этапом в моделировании взаимосвязи фармакокинетики и фармакодинамики является установление формы зависимости концентрация — эффект при соотнесении «эффекторного отсека» (биофазы действия) к конкретной области обмена кинетической схемы распределения [101, 108]. Выше нами было показано, что форма зависимости доза — эффект представлена гиперболой первого порядка. Однако если даже к сказанному прибавить заключения о линейной зависимости «доза — концентрация» и о том, что головной мозг и плазма крови могут быть описаны как единый отсек кинетической схемы распределения, экспериментального решения требуют следующие вопросы: 1) является ли головной мозг (как кинетический отсек схемы распределения) адекватным «биофазе действия» или в схему распределения необходимо вводить фиктивный периферический

9 7–2934

«эффекторный отсек»? 2) являются ли величины E_{max} и d_{50} (C_{50}) постоянными в течение опыта?

Теория и конкретные примеры соотнесения эффекта центральному (периферическому) отсеку кинетической схемы распределения при выражении зависимости эффекта от концентрации уравнением Хилла [159] (гипербола n-го порядка) представлены в работе [108]. Достаточно показательным методом [106, 108] признано изучение формы зависимости эффект — концентрация в диапазоне исследования. Отсутствие значительного гистерезиса опытных данных (рис. 5.20) свидетельствует о том, что противосудорожный эффект БД является концентрационно-центральным относительно кинетической схемы распределения соединений.

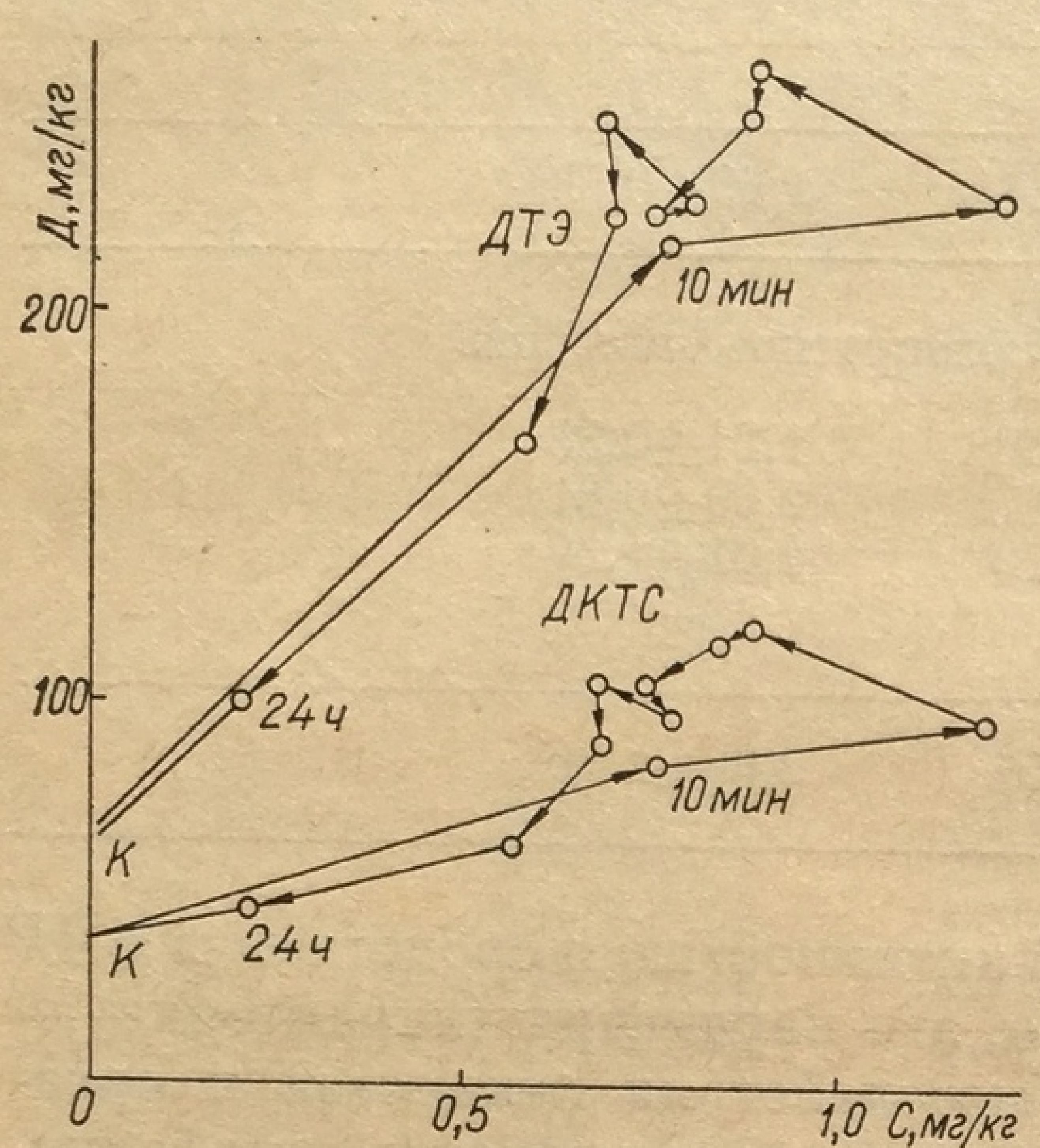


Рис. 5.20. Динамика (0,17; 0,32; 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 8; 24 ч) выраженности гистерезиса зависимости концентрация ^{14}C-феназепама (C) в головном мозгу мышей — противосудорожный эффект (минимальные эффективные дозы ДКТС и ДТЭ коразола ($Д$) у мышей)

В связи с тем, что для любого момента времени интенсивность фармакологического ответа — однозначная функция количества препарата в центральном отсеке (биофазе действия), нами изучена взаимосвязь формирования противосудорожного эффекта производных БД не только с дозами введенного вещества, но и содержанием его в головном мозгу экспериментальных животных. При этом необходимо одномоментное определение выраженности фармакологического эффекта и концентрации исходных препаратов и их метаболитов в органах-мишенях. В более ранних исследованиях [83, 85] нами предложен способ одномоментной регистрации минимальных эффективных доз коразола и содержания препарата в головном мозгу животных. При оценке уровня концентрации исходного препарата и его метаболитов в тест-объекте была изучена кинетика их извлечения из биосубстрата. С этой целью непосредственно после регистрации минимальных эффективных доз коразола животных декапитировали, извлекали головной мозг, растирали с безводным сульфатом натрия и радиоактивный материал последовательно экстрагировали хлороформом (однофазная (жидкость — твердое тело) экстракция). Оптимизация процессов экстракции препаратов и их метаболитов из биосубстрата возможна при проведении двух этапов работы. На первом этапе изучается кинетика извлечения препарата в модельных системах. Ограниченность данного метода состоит в отсутствии информации о степени извлечения метаболитов исходного препарата. На втором этапе определяются оптимальные параметры процесса извлечения (соотношение объема экстрагента к объему экстрагируемой про-

бы, количество достаточных экстракций для заданной степени извлечения и т. д.) на основании исследования кинетики экстракции органическими растворителями производных БД и их метаболитов.

Обосновав методические приемы определения ^{14}C-БД и их метаболитов в головном мозгу экспериментальных животных [88, 160], мы можем приступить к рассмотрению характера зависимости доза — концентрация — противосудорожный эффект. Зависимость содержания ^{14}C-производных БД (феназепам, бромнордиазепам, тетрагидрофеназепам и их метаболиты) в головном мозгу мышей от вводимой дозы описывается линейной функцией ($P \leqslant 0{,}01$)

$$C_i = a + b\text{Д}_i,$$

где C_i — концентрация общего радиоактивного материала; Д_i — доза препарата; a и b — коэффициенты регрессии (см. рис. 5.16, 5.17 и 5.21). Как показали исследования, характер взаимосвязи не менялся во времени и не зависел от модифицирующих факторов, связанных с особенностями поступления соединений в организм (способ введения, форма препарата). Данная линейная зависимость между количеством введенного вещества и его концентрацией в изучаемом тест-объекте позволяет рассмотреть изучаемые явления как процессы первого порядка и использовать математический аппарат для описания зависимости концентрация — эффект. Форма зависимости возрастания минимальных эффективных доз коразола, вызывающих ДКТС и ДТЭ (ЭД_i) относительно концентрации (C_i) БД в головном мозгу, выражается уравнением

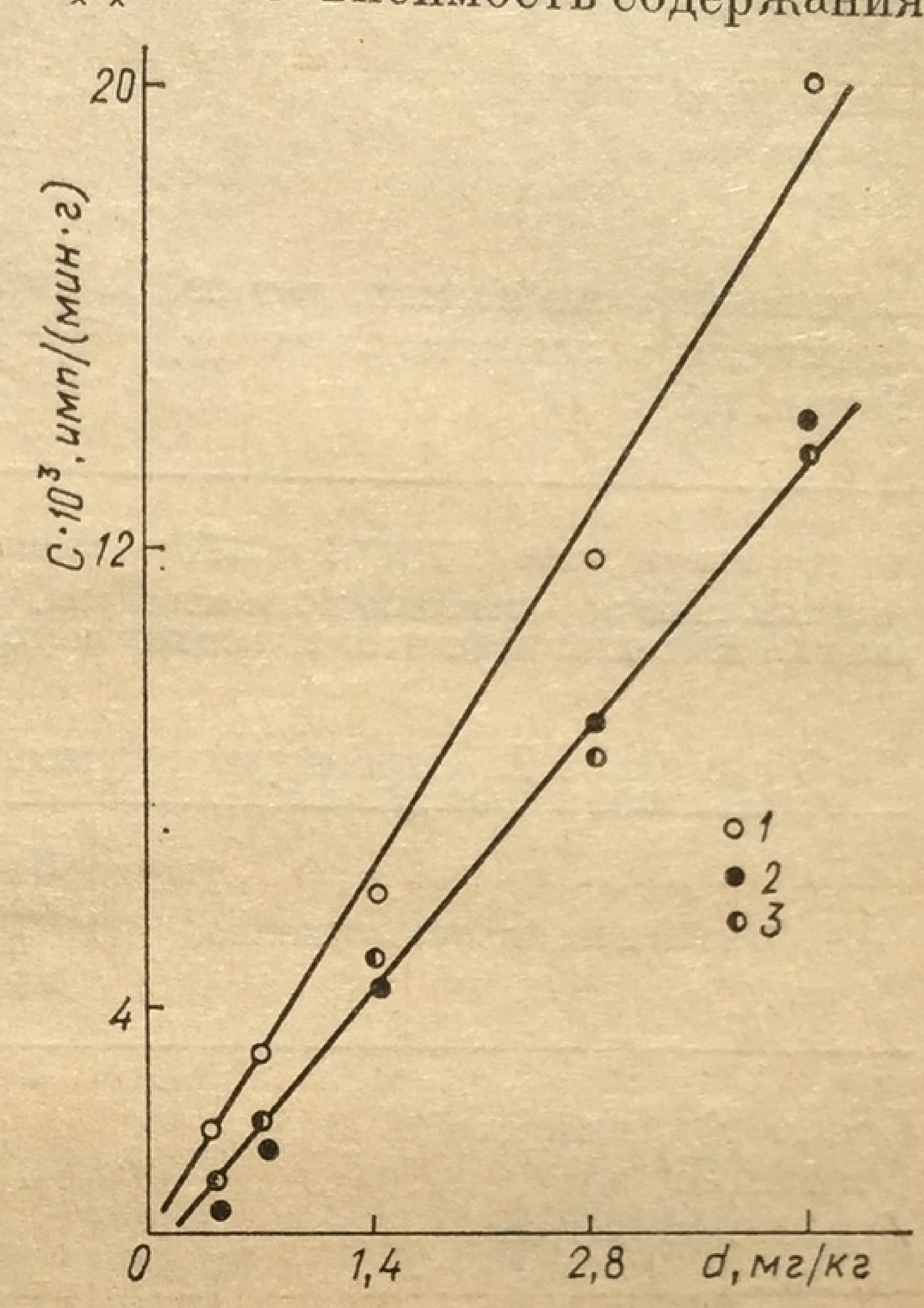


Рис. 5.21. Зависимость концентраций ^{14}C-продуктов в головном мозгу мышей от вводимых доз (d) ^{14}C-феназепама, связанного с липосомами, через 0,5 (*1*), 2 (*2*) и 4 (*3*) ч после введения

$$(\text{ЭД}_i - \text{ЭД}_\text{к})\,(\text{ЭД}_{\max} - \text{ЭД}_\text{к})^{-1} = C_i^n\,[(C_i + C_{50})^n]^{-1}. \qquad (5.16)$$

Линеаризация данных в двойных обратных координатах $\left(\frac{1}{\text{ЭД}_i - \text{ЭД}_\text{к}}, \frac{1}{C_i}\right)$ и дальнейший регрессионный анализ показали (рис. 5.22, 5.23) высокую степень соответствия ($P \leqslant 0{,}001$) этой функции указанной зависимости. Кривая концентрация — противосудорожный эффект является гиперболой первого порядка ($n = 1$), что свидетельствует о мономолекулярности процессов взаимодействия производных БД с БД-рецептором, в результате которых развивается регистрируемый фармакологический эффект. Данный вывод подтверждается резуль-

Таблица 5.6. **Параметры регрессионного анализа зависимости доза — эффект при введении экспериментальным животным производных 1,4-бенздиазепина**

Соединения, способ сведения	Продолжительность опыта, ч	ДКТС			ДТЭ		
		$ЭД_{max} - ЭД_к \pm m$	$ЭД_{max} \pm m$	$d_{50} \pm m_{d_{50}}$	$ЭД_{max} \pm ЭД_к \pm m$	$ЭД_{max} \pm m$	$d_{50} \pm m_{d_{50}}$
Бромнордиазепам в/б	1	137,0±58,36	189,2±58,43	4,25±2,06	238,1±102,1	315,1±102,16	4,29±2,14
Диазепам, в/б	0,5	99,1±0,96	155,1±3,10	2,09±0,06	248,7±2,79	341,9±6,44	4,23±0,07
Феназепам, в/б	0,5	128,4±0,49	184,4±3,67	0,20±3,67	237,2±1,23	330,5±6,57	0,48±0,004
То же per os	0,5	109,69±1,98	156,6±3,31	0,64±0,18	252,9±9,39	331,1±10,11	1,59±0,48
То же	2	136,4±1,59	183,2±3,09	1,59±0,53	168,7±5,26	248,9±6,50	1,22±0,63
» »	4	107,8±4,95	154,7±5,61	1,78±0,44	185,0±12,52	265,2±13,09	2,52±1,04
Феназепам в липосомах, per os	2	119,9±21,6	170,9±22,9	1,14±0,33	193,5±27,22	294,5±27,52	0,89±0,18
Феназепам в липосомах, в/в	2	99,3±1,95	159,3±7,68	0,99±0,04	229,7±3,78	330,7±5,53	1,30±0,04
То же, в/б	2	81,9±2,08	141,9±7,91	0,36±0,02	193,0±6,75	294,0±7,87	0,28±0,01

Примечание: ДКТС и ДТЭ — минимальные эффективные дозы коразола, вызывающие клонико-тонические судороги и тоническую экстензию; $ЭД_{max}$ — максимальный эффект; $ЭД_к$ — минимальные эффективные дозы коразола, вызывающие эффект в контрольной группе животных; m — среднеквадратические ошибки соответствующих величин; d_{50} — дозы коразола, вызывающие 50 %-ный эффект от максимального.

Таблица 5.7. **Параметры регрессионного анализа зависимости концентрация — эффект при введении экспериментальным животным производных БД**

Соединение, способ введения	Продолжительность опыта, ч	ДКТС			ДТЭ		
		$ЭД_{max} - ЭД_к \pm m$	$ЭД_{max} \pm m$	$C_{50} \pm m$	$ЭД_{max} - ЭД_к \pm m$	$ЭД_{max} \pm m$	$C_{50} \pm m$
Бромнордиазепам, в/б	1	166,5±0,68	218,8±4,68	3,67±0,86	279,5±7,41	357,3±10,12	3,44±1,64
Феназепам, в/б	0,5	132,7±6,63	177,7±4,25	0,24±0,10	284,6±2,70	377,4±8,11	0,22±0,08
Феназепам, per os	0,5	113,8±3,34	160,7±3,31	0,57±0,03	276,1±11,5	352,3±12,12	1,51±0,09
То же	2	130,8±3,01	177,7±4,01	0,78±0,03	158,5±4,47	238,7±5,88	0,59±0,02
» »	4	93,4±3,31	154,7±5,61	0,62±0,04	138,9±5,75	219,1±6,90	0,64±0,04
Феназепам в липосомах, в/в	2	100,0±0,02	160,3±7,69	0,60±0,04	230,7±3,57	331,7±5,39	0,85±0,02
То же, в/б	2	83,6±2,43	143,6±7,82	0,18±0,02	217,8±3,44	318,8±5,28	0,31±0,01

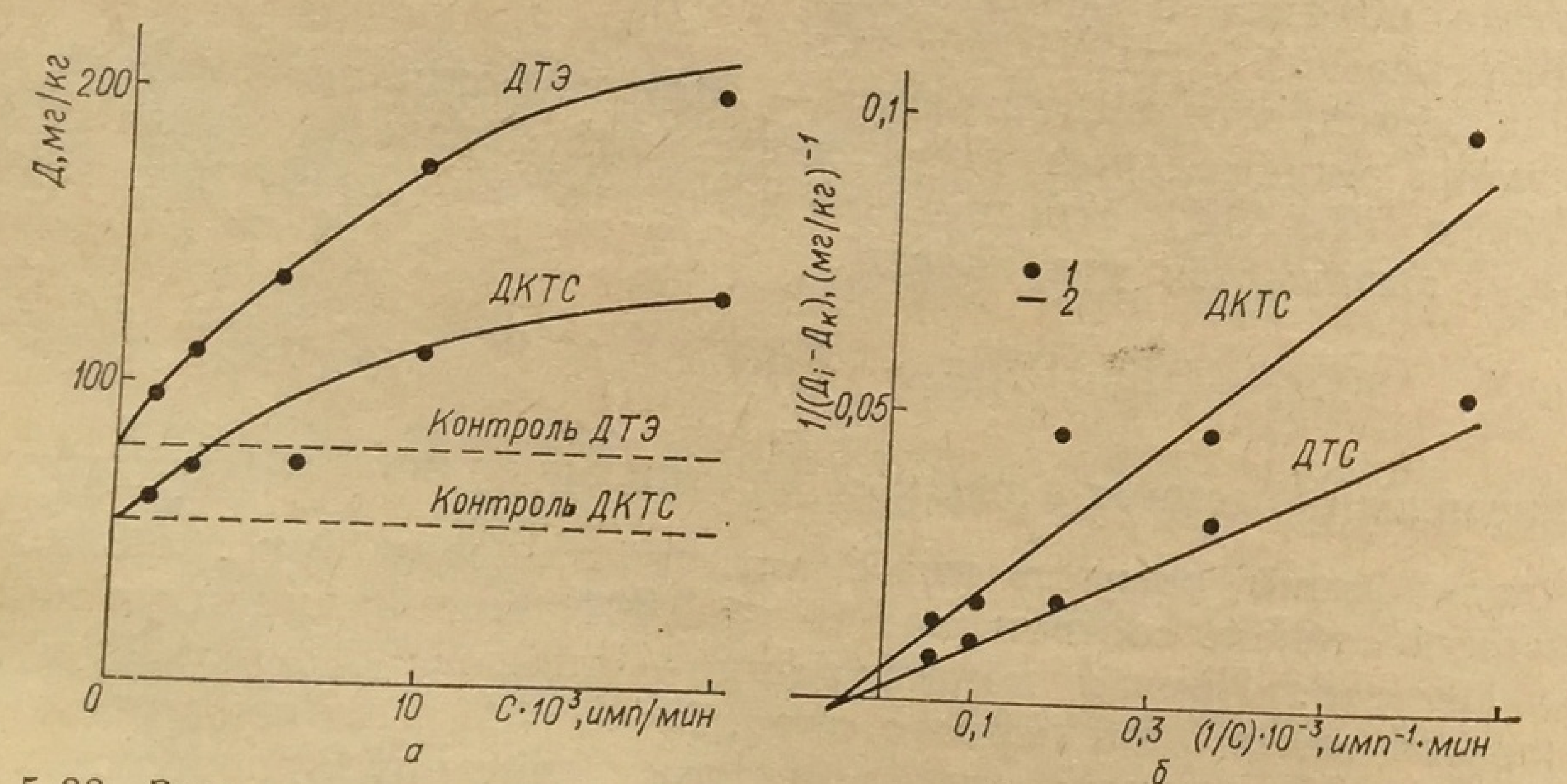


Рис. 5.22. Зависимость противосудорожного эффекта бромнордиазепама (*1* — экспериментальные и *2* — расчетные значения ДКТС и ДТЭ) от его содержания в головном мозге мышей в прямых (*а*) и двойных обратных координатах (*б*)

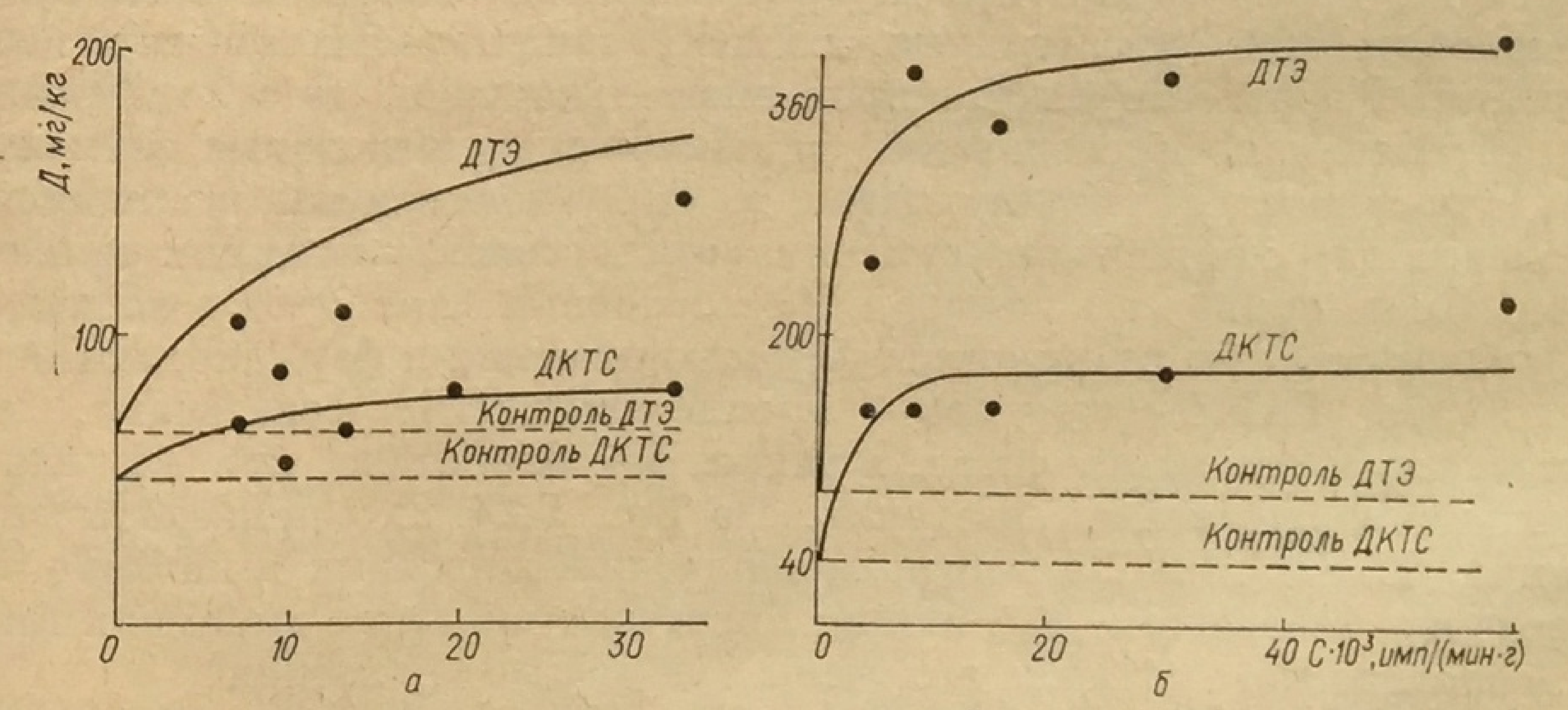


Рис. 5.23. Зависимость противосудорожного действия 1,2,4,5-тетрагидрофеназепама (*а*) и феназепама (*б*) от концентрации (С) препаратов в головном мозгу мышей

Таблица 5.6. Параметры регрессионного анализа зависимости доза — эффект

Соединения, способ сведения	Продолжительность опыта, ч	ДКТС	
		ЭД$_{max}$ — ЭД$_{к}$ ± m	ЭД$_{max}$ ± m
Бромнордиазепам в/б	1	137,0±58,36	189,2±58,43
Диазепам, в/б	0,5	99,1±0,96	155,1±3,10
Феназепам, в/б	0,5	128,4±0,49	184,4±3,67
То же per os	0,5	109,69±1,98	156,6±3,31
То же	2	136,4±1,59	183,2±3,09
» »	4	107,8±4,95	154,7±5,61
Феназепам в липосомах, per os	2	119,9±21,6	170,9±22,9
Феназепам в липосомах, в/в	2	99,3±1,95	159,3±7,68
То же, в/б	2	81,9±2,08	141,9±7,91

Примечание: ДКТС и ДТЭ — минимальные эффективные дозы коразола, вызывающие минимальные эффективные дозы коразола, вызывающие эффект в контрольной группе живот вающие 50 %-ный эффект от максимального.

Таблица 5.7. Параметры регрессионного анализа зависимости концентрация

Соединение, способ введения	Продолжительность опыта, ч	ДКТС	
		ЭД$_{max}$ — ЭД$_{к}$ ± m	ЭД$_{max}$ ± m
Бромнордиазепам, в/б	1	166,5±0,68	218,8±4,68
Феназепам, в/б	0,5	132,7±6,63	177,7±4,25
Феназепам, per os	0,5	113,8±3,34	160,7±3,31
То же	2	130,8±3,01	177,7±4,01
» »	4	93,4±3,31	154,7±5,61
Феназепам в липосомах, в/в	2	100,0±0,02	160,3±7,69
То же, в/б	2	83,6±2,43	143,6±7,82

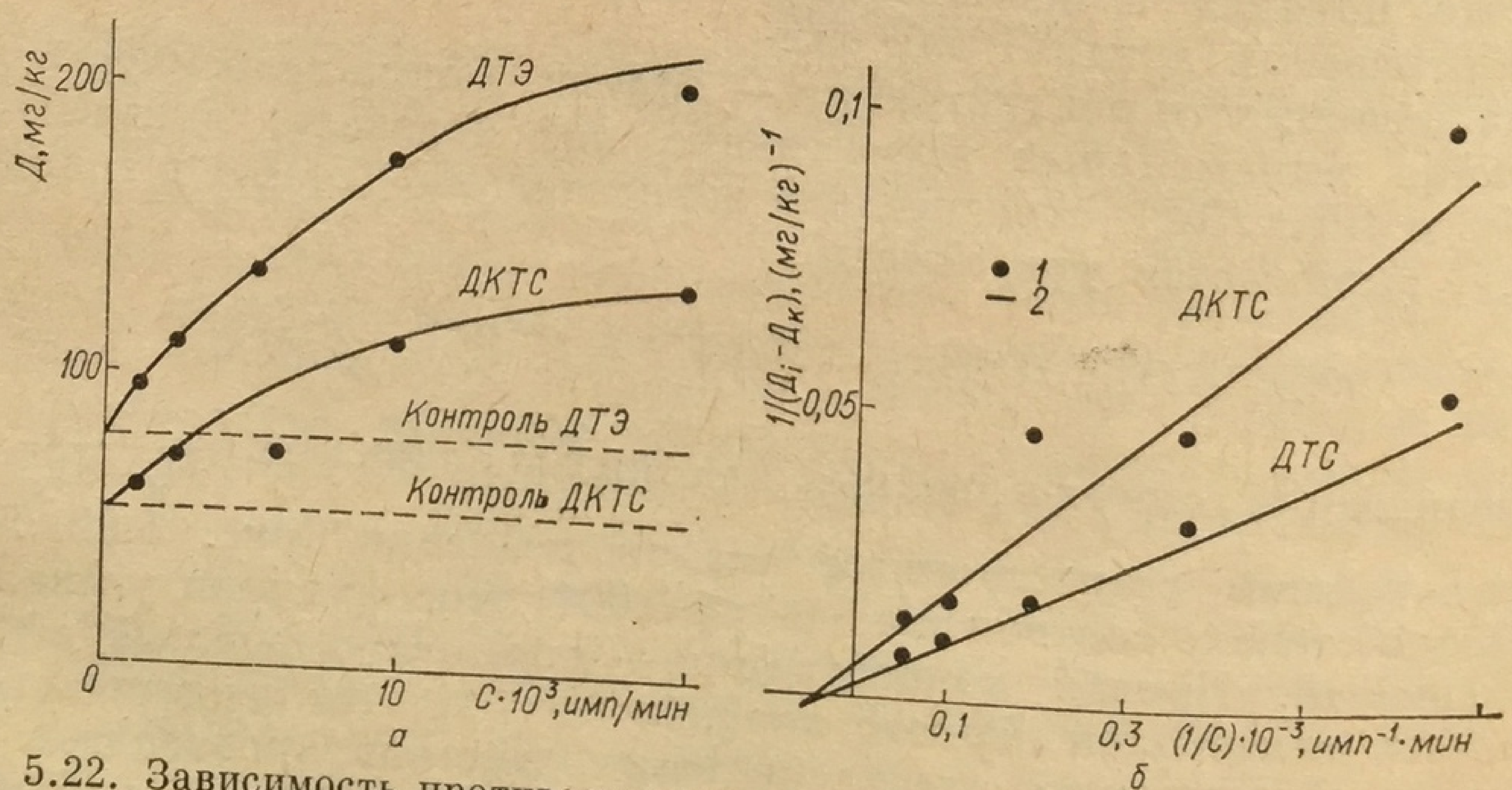


Рис. 5.22. Зависимость противосудорожного эффекта бромнордиазепама (*1* — экспериментальные и *2* — расчетные значения ДКТС и ДТЭ) от его содержания в головном мозге мышей в прямых (*а*) и двойных обратных координатах (*б*)

при введении экспериментальным животным производных 1,4-бенздиазепина

	ДТЭ		
$d_{50} \pm m_{d_{50}}$	ЭД$_{max}$ ± ЭД$_к$ ± m	ЭД$_{max}$ ± m	$d_{50} \pm m_{d_{50}}$
4,25±2,06	238,1±102,1	315,1±102,16	4,29±2,14
2,09±0,06	248,7±2,79	341,9±6,44	4,23±0,07
0,20±3,67	237,2±1,23	330,5±6,57	0,48±0,004
0,64±0,18	252,9±9,39	331,1±10,11	1,59±0,48
1,59±0,53	168,7±5,26	248,9±6,50	1,22±0,63
1,78±0,44	185,0±12,52	265,2±13,09	2,52±1,04
1,14±0,33	193,5±27,22	294,5±27,52	0,89±0,18
0,99±0,04	229,7±3,78	330,7±5,53	1,30±0,04
0,36±0,02	193,0±6,75	294,0±7,87	0,28±0,01

клонико-тонические судороги и тоническую экстензию; ЭД$_{max}$ — максимальный эффект; ЭД$_к$ — ных; m — среднеквадратические ошибки соответствующих величин; d_{50} — дозы коразола, вызы-

— эффект при введении экспериментальным животным производных БД

	ДТЭ		
$C_{50} \pm m$	ЭД$_{max}$ − ЭД$_к$ ± m	ЭД$_{max}$ ± m	$C_{50} \pm m$
3,67±0,86	279,5±7,41	357,3±10,12	3,44±1,64
0,24±0,10	284,6±2,70	377,4±8,11	0,22±0,08
0,57±0,03	276,1±11,5	352,3±12,12	1,51±0,09
0,78±0,03	158,5±4,47	238,7±5,88	0,59±0,02
0,62±0,04	138,9±5,75	219,1±6,90	0,64±0,04
0,60±0,04	230,7±3,57	331,7±5,39	0,85±0,02
0,18±0,02	217,8±3,44	318,8±5,28	0,31±0,01

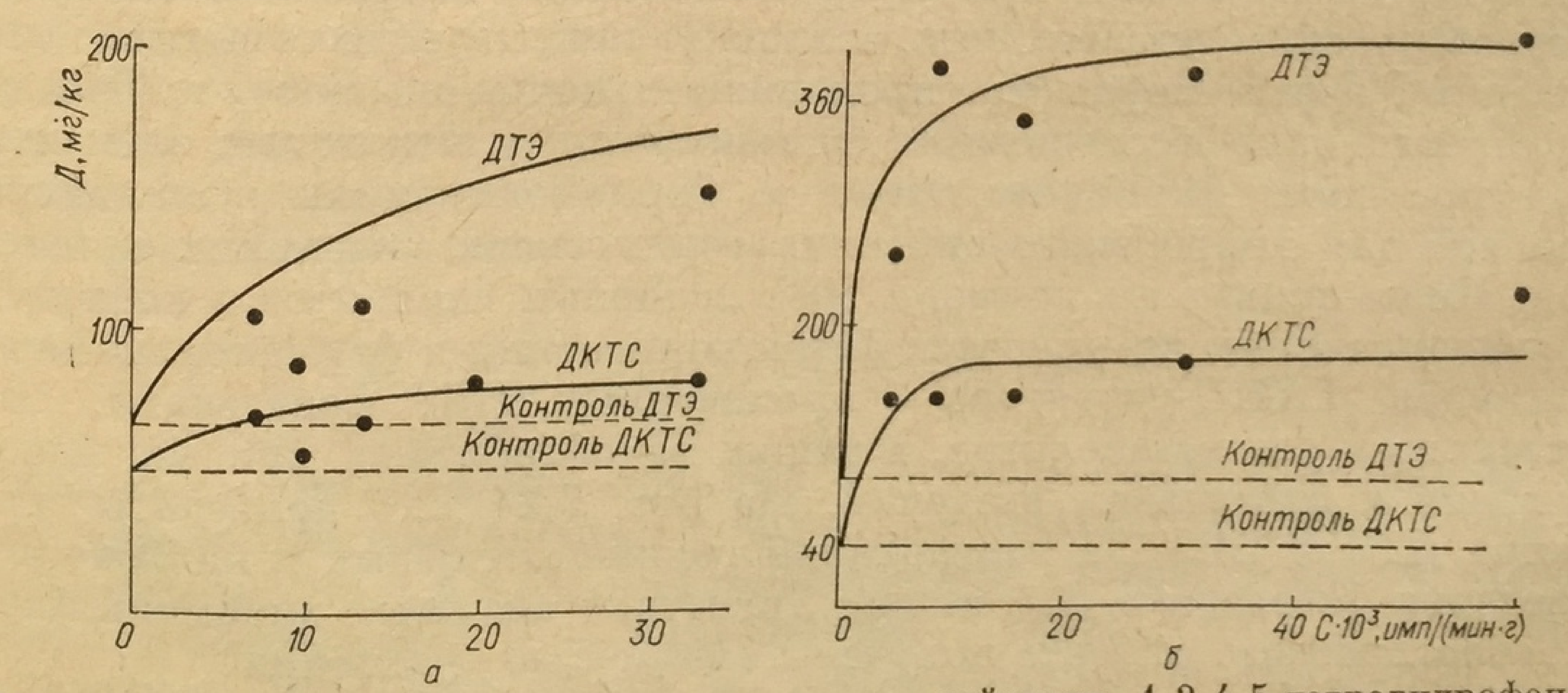
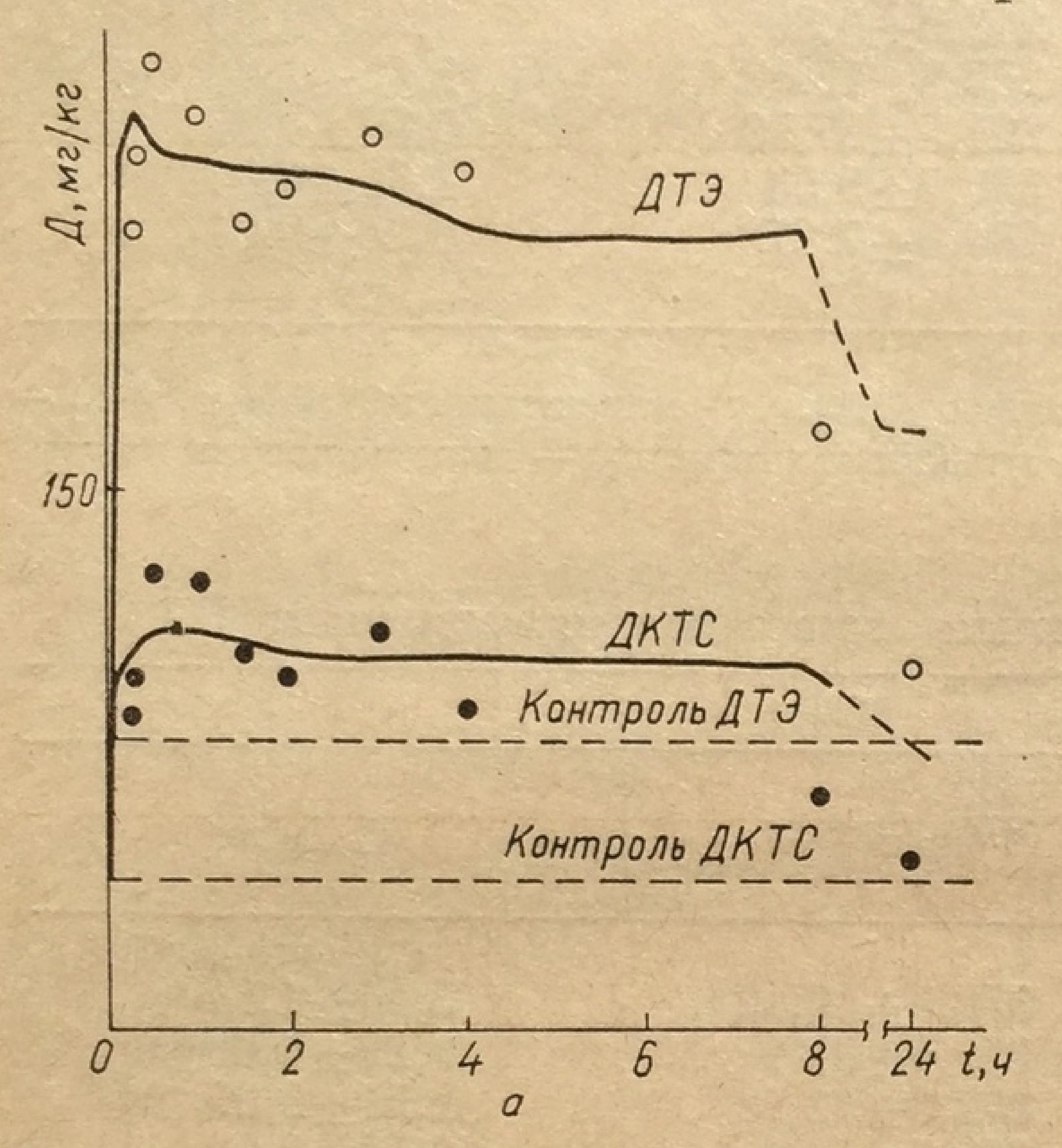


Рис. 5.23. Зависимость противосудорожного действия 1,2,4,5-тетрагидрофеназепама (*а*) и феназепама (*б*) от концентрации (С) препаратов в головном мозгу мышей

татами исследований in vitro [14, 69] и экспериментов, выполненных радиолигандными методами.

В табл. 5.6 и 5.7 представлены основные показатели изучаемой зависимости — теоретического значения максимального противосудорожного эффекта производных БД и концентрации, вызывающей 50%-ный эффект, от максимального, пропорционального константе диссоциации комплекса лиганд — рецептор. Эти данные, на наш взгляд, являются достаточно статистически обоснованными для сравнительного анализа действия производных БД и их антагонистов



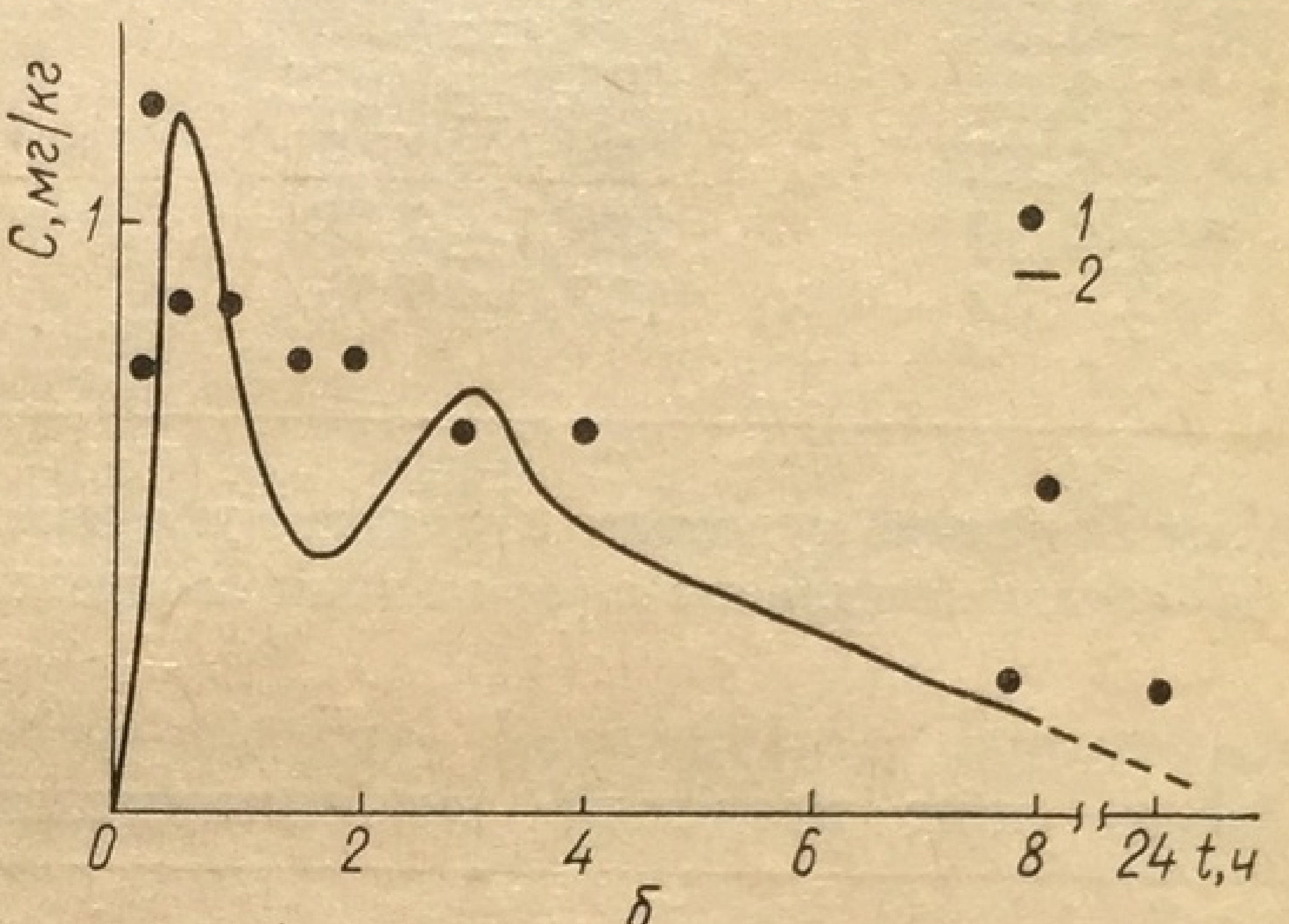


Рис. 5.24. Взаимосвязь фармакодинамических (*а*) и фармакокинетических (*б*) показателей при введении экспериментальным животным С-феназепама в липосомах:

1 — экспериментальные величины; *2* — расчетные значения, определенные в соответствии с моделью (раздел 5.2)

Показано, что максимальный противосудорожный эффект для данных соединений в диапазоне 0,5—2 ч является показателем стабильным и независимым от химической структуры вещества. Фармакологическая активность соединения коррелирует с величиной IC_{50}. Способ введения изменял указанные показатели во времени. В малые временные промежутки (5—10 мин) при внутривенном введении феназепама отмечено возрастание этих величин, что может свидетельствовать о десенситизации БД-рецепторов (при продолжительности опыта более 30 мин).

Проведенные исследования демонстрируют некоторые элементы моделирования фармакокинетики и фармакодинамики и являются основой для корректного описания взаимосвязи указанных процессов. Ниже приведены примеры трех основных вариантов в подходах к моделированию взаимосвязи фармакокинетики и фармакодинамики лигандов ГАМК-рецептора — производных БД: феназепама, калмазепама и его метаболитов, а также фенобарбитала при их однократном и длительном введении. На рис. 5.24, *а*, *б* приведены значения ДТЭ и ДКТС в контрольной группе животных и на фоне в/б введения феназепама (1,4 мг/кг). Расчетные значения динамики фармакологического эффекта получены с помощью уравнения

$$ЭД_t - ЭД_к = \frac{(ЭД_{max} - ЭД_к)\, C_t^n}{(C_{50} + C_t)^n}, \qquad (5.17)$$

где C_t — содержание ^{14}C-продуктов в головном мозгу (мг/кг), определенное к моменту опыта t; $ЭД_к$, $ЭД_t$ и $ЭД_{max}$ — значения величин минимальных эффективных доз коразола (мг/кг), вызывающих регистрируемые показатели судорожного припадка в контрольной группе животных. В опытных группах их значения рассчитываются на основании уравнения и максимального (расчетного) значения; C_{50} — расчетное значение содержания ^{14}C-продуктов в головном мозгу мышей при $ЭД_{50} - ЭД_к = (ЭД_{max} - ЭД_к)^2$, $n = 1$. Расчетные величины, использованные при моделировании, определены по полученным в параллельно проведенных экспериментах параметрам ($ЭД_к$, $ЭД_{max}$, C_{50} и n) кривой доза — эффект (табл. 5.6 и 5.7).

Значения изменения содержания ^{14}C-продуктов в головном мозгу мышей (рис. 5.25) рассчитаны на основании преобразования приведенного выражения

$$\frac{ЭД_t - ЭД_к}{ЭД_{max} - ЭД_t} C_{50} = C_t. \qquad (5.18)$$

Как видно из рис. 5.25 *а*, *б*, результаты опытов удовлетворительно описывают наблюдаемые процессы в диапазоне 10—240 мин. Недостатком данного подхода является допущение о равноценной фармакологической активности всех регистрируемых соединений (суммы свободных ^{14}C-метаболитов феназепама и исходного ^{14}C-соединения). В действительности нам из опытных данных (рис. 5.4, табл. 5.3) известны только параметры зависимостей доза — эффект феназепама и его 3-оксиметаболита, позволяющие сделать указанное допущение, и отсутствует какая-либо информация о фармакологической активности продуктов гидроксилирования ароматических колец молекулы феназепама.

В работе [52] осуществлено моделирование взаимосвязи фармакокинетики и фармакодинамики камазепама — соединения, подвергающегося в организме крыс интенсивной биотрансформации [52]. Некоторые метаболиты (оксазепам, метилоксазепам) обладают более высокой (в 3—8 раз) фармакологической активностью (миорелаксация, защита от коразоловых судорог, показатели поведения в условиях конфликтной ситуации), чем исходное соединение. Авторы сопоставляют две модели, основанные на вариантах уравнения Хилла. В первом случае предполагается, что фармакологическое действие БД проявляется независимо и наблюдаемый эффект является суммарным:

$$E_N = \sum_{i=1}^{N} e_i = \sum_{i=1}^{N} 1/(1 + [EC_{50,i}/C_i]^H). \qquad (5.19)$$

Здесь E_N — эффект после введения N-го соединения; e_i — парциальный эффект i-го соединения; C_i и $EC_{50,i}$ — уровень в плазме крови в исследуемое время и 50 %-ный эффективный уровень в плазме крови для i-го соединения; H — коэффициент Хилла; $N = 1, 2, 3, 4$ для оксазепама, метилоксазепама, M_5 [52] и камазепама. Во втором случае принимается, что БД взаимодействуют (конкурентно) при связывании с БДР, что отражается на проявлении их парциального

фармакологического эффекта:

$$E_N = \sum_{i=1}^{N} e_i = \sum_{i=1}^{N} 1 \Bigg/ \left(1 + \left[\left\{1 + \sum_{\substack{j=1\\ j\neq i}}^{N} C_i/EC_{50,j}\right\} \{EC_{50,i}/C_i\}\right]^H\right), \quad (5.20)$$

где $j = 1, 2, 3, 4$ для оксазепама, метилоксазепама, M_5 и камазепама.

Предварительно авторы работы [52] определили значения величин отношений концентраций указанных соединений (плазма крови/головной мозг) (см. рис. 5.19), что позволило им объединить оба биосубстрата в центральный фармакокинетический отсек.

Сопоставление опытных и расчетных данных, определение соответствия обоих вариантов моделей осуществлены на основании сравнения величин сумм квадратов отклонений расчетных величин от экспериментальных (ΣSS). Второй вариант модели отмечен как более адекватный: $\Sigma SS_1/\Sigma SS_2 = 9—2$ в зависимости от исследуемого соединения и вводимых доз. Огромным преимуществом этого варианта кинетической модели является возможность оценки (исходя из ее структуры) взаимодействия лигандов ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля при формировании ими фармакологического эффекта. Определение парциальных эффектов метаболитов — новый этап в исследовании фармакодинамики БД-соединений, у которых относительная эффективность биотрансформации составляет 0,70—0,99 [157].

Существенным недостатком указанной работы является попытка описания уравнением Хилла эффекта, регистрируемого в альтернативной форме. Поэтому коэффициенты Хилла (H) не имеют конкретного физического смысла, а регистрируемая форма зависимости время — эффект определяется характером дисперсии выходного показателя, зависящей от условий опыта. В исследовании они подобраны при условии минимизации величин in vivo, а не из кривых концентрация — эффект. В структуру приведенных моделей не включены параметры фармакокинетики (расчеты осуществляются на основании точечных значений концентраций). В связи с этим они должны быть классифицированы как эффекторные модели фармакокинетики [124]. В противоположность данному подходу в работе [108] используется математический аппарат, позволяющий одновременно рассчитывать фармакокинетические и фармакодинамические показатели на основании двух типов фармакокинетических моделей с эффекторным отсеком.

Предполагается, что все кинетические процессы — первого порядка и эффект определяется уравнением Хилла при введении в него двух кинетических постоянных скоростей (одна из которых — $K_{э.о}$ — постоянная скорости элиминации из «эффекторного отсека» — величина заведомо фиктивная, превращающая данную модель в формальное построение):

$$E = \frac{[K_{э.о}A_e/(K_{NE}V_n)]^j}{[K_{э.о}A_e/(K_{NO}V_n)]^j + C^j_{SS(50)}}. \quad (5.21)$$

Здесь A_e — максимально возможный эффект; $C_{SS(50)}$ — 50%-ная эффективная концентрация в тест-объекте; E — определяемый эффект ($0 < E < 1$); K_{NE} и K_{NO} — постоянные скорости поступления и элиминации из «эффекторного отсека»; V_n — объем распределения (N-го) отсека модели; j — коэффициент Хилла.

Приложение указанного аналитического аппарата к опытным данным по фармакокинетике — фармакодинамике фенобарбитала в организме крыс при однократном и длительном введении позволило установить, что в результате его длительного введения существенно возрастает постоянная скорости медленной фазы распределения, снижается фармакологическая активность препарата (не только в результате повышения значения величины $C_{SS(50)}$, но и при изменении формы зависимости эффекта от концентрации соединения). Недостатки у данной модели те же, что у предыдущей (по той же причине). Теоретические основы моделирования процессов фармакокинетики — фармакодинамики, рассмотренные с аналогичных позиций, но при градированной форме учета эффекта представлены в монографии [76].

В заключение следует подчеркнуть, что неадекватные подходы к определению форм зависимостей концентрация — эффект, использованные при описании фармакокинетики — фармакодинамики камазепама [52] и фенобарбитала [108] неприменимы в моделировании принципов функционирования ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля in vivo, хотя приведенные модели удобны для осуществления фармакологического (клинического) прогнозирования — описания конкретной формы взаимосвязи время — концентрация — эффект.

В отличие от них модели, основанные на регистрации минимальных эффективных доз, демонстрируют в исследуемых процессах взаимодействия лигандов ГАМК-рецептора формы функциональных зависимостей и соответствующие коэффициенты Хилла, аналогичные полученным в опытах in vitro, являясь системами с взаимно однозначным соответствием между входными и выходными величинами. Перспективным может оказаться введение в их структуру принципов анализа второго варианта модели, представленной в работе [52] для определения парциальных фармакологических эффектов метаболитов. В целом данная область находится в состоянии интенсивного развития, использование современной вычислительной техники (ЭВМ, ЭЦВМ) значительно расширяет ее возможности.

Сложные эффекты. Элементы математического моделирования в эффекторном анализе ГАМК-рецептора. Значительное число фармакологических эффектов не относится к быстрообратимым, описание и формальный аппарат анализа которых представлены в разделе 5.2. Эффекты, выраженность которых многомерна (физиологические функции организма в норме и патологии, процессы обучения и поведения, эмоции, память), относятся к сложным, при развитии которых отсутствует пропорциональность между концентрацией препарата в биофазе на любом этапе распределения и элиминации [76].

Исследованию сложных эффектов, обусловленных воздействием различных лигандов на субъединицы супрамолекулярного ГАМК-

БД-рецепторно-ионофорного ансамбля, посвящено достаточное количество работ [2, 7, 19, 25, 35, 59, 77, 90, 113—116]. Появление их — весьма важный этап в изучении роли и механизма действия тормозного медиатора — ГАМК в физиологических функциях организма и высших интегративных системах мозга. Сложность и многоступенчатость формирования фармакологического ответа вызывают необходимость искусственного упрощения структуры модели исследуемой биосистемы путем установления функциональной зависимости между двумя или несколькими выходными величинами.

Рассматриваемые нами исследования можно условно разделить на несколько групп по подходам авторов к изучаемой проблеме.

Ряд работ посвящен изучению взаимосвязи параметров связывания лигандов ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля ^{3}Н-диазепама, ^{3}Н-мусцимола и т. д./в опытах in vivo при различных режимах (однократное, многократное) введения модификаторов [35, 59, 90, 92, 122].

В работе [90] показано, что длительное введение подпороговых доз коразола вызывало появление судорожного эффекта у экспериментальных животных и увеличивало количество мест связывания ^{3}Н-диазепама. Константа ингибирования процесса коразолом возрастала. Однако проведенный корреляционный анализ не выявил взаимосвязи фармакологического эффекта с указанными величинами. Основной вывод заключается в том, что коразол является антагонистом БДР. Вместе с тем спорной представляется исходная предпосылка исследования. Подобный подход обоснован лишь при наличии четких доказательств существования эндогенных лигандов БДР, обладающих противосудорожной активностью, или при совместном введении конвульсанта и антиконвульсанта. В противоположном случае единственным выводом является заключение о перестройке биосистемы под влиянием лиганда. Изменения функциональных особенностей комплекса при этом не были выявлены. Последнее заключение можно отнести и к работам [35, 92].

Более информативны работы, в которых данные радиолигандного анализа рассматриваются в связи с воздействием на ГАМК-БД-рецепторно-ионофорный ансамбль соединений, обладающих противоположным фармакологическим эффектом и воздействующих на его различные субъединицы [35, 59, 122]. Если для быстрообратимых эффектов показана линейная зависимость между выраженностью действия и изменениями связывания различных лигандов и БДР in vivo [9, 20, 67], то для сложных эффектов четкой корреляции не определено [35, 59]. Немаловажную роль играют методологические трудности как в постановке задачи, так и в анализе полученных результатов. Так, оценка пентабарбиталового сна при введении мусцимола [59] явно некорректна, так как последний обладает судорожным действием и выделить состояние сна и фармакологического эффекта мусцимола практически невозможно. Длительное введение лигандов [7, 59, 92, 115, 116] может изменять биохимический статус организма, например, активность монооксигеназной системы печени под влиянием индукторов типа фенобарбитала, метаболизм БД и их

элиминацию. Однако ни в одной из указанных работ этот фактор не учитывался, хотя существует достаточное количество публикаций, в которых рассматриваются эти вопросы [151].

Особый интерес вызывают работы [7, 59, 77, 114], авторы которых изучают механизм развития толерантности и появление синдрома отмены к различным сложным эффектам БД. При этом исследователи не ограничиваются констатацией факта развития толерантности к тем или иным видам поведенческих реакций при введении БД, и рассматривают электрофизиологические и биохимические изменения, происходящие в организме [7, 114]. Показано, что длительное введение небольших доз диазепама приводит к понижению чувствительности нейронных систем к ГАМК. Изменения в процессах распределения и связывания БД не могут объяснить динамику развития разных поведенческих эффектов, поэтому в статье [114] предложен весьма ценный подход — рассмотрение конечного этапа эффекта (поведенческой реакции) в плане развития адаптационного процесса в ответ на хроническое введение препарата.

В исследованиях [115, 116] изложены результаты электрофизиологических, фармакокинетических и поведенческих экспериментов при длительном (до одного года) введении фенобарбитала, дифенилгидантоина и т. д. на различных видах экспериментальных животных (кошки, обезьяны). Данные работы — одни из немногих, в которых рассматриваются кинетические параметры содержания исходных соединений в плазме крови. Для фенобарбитала и дифенилгидантоина при их ежесуточном введении отмечено стационарное содержание на протяжении 52 недель [115]. Однако данный показатель не рассматривался в связи с электрофизиологическими исследованиями. В статье [116] показана положительная корреляция между максимальным уровнем фенобарбитала, карбамазина и дифенилгидантоина (в течение 96 ч) в плазме крови и показателями различных судорожных состояний.

Обобщающей работой в данной области является монография [25], где приведены доказательства участия тормозного медиатора в регуляции таких функций организма, как рефлекторная деятельность, терморегуляция, поведенческие реакции и т. д.

Рассмотрение вышеизложенного материала показало повышенный интерес многих исследователей к выявлению закономерностей, механизмов действия и выраженности сложных эффектов в норме и патологии, опосредованных действием супрамолекулярного ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля. Вместе с тем противоречивость многих заключений не позволяет однозначно оценить функционирование биосистемы. Причиной этого является также недостаточность фактического материала (работы ведутся на протяжении лишь нескольких лет), практически полное отсутствие математического описания свойств биосистем. Биологическая система имеет много уровней иерархии, на каждом из которых можно выделить свои системы с определенными функциями, учетом статистических и физико-химических свойств принципов функционирования и отсюда найти адекватную математическую модель. Основные методы математической биологии, возможности приложения их в нейрофизиологии, фармакологии,

практически любой области экспериментальной и клинической медицины изложены в [77]. В настоящем разделе нам хотелось бы остановиться на основных моментах применения математических методов в данной области фармакологии.

Для поиска адекватной математической модели первым и необходимым условием является классификация биосистем по сложности и уровню относительной организации. Биосистемы могут быть простыми ($0 \leqslant H_m \leqslant 3$), сложными ($3 < H_m < 6$) и очень сложными ($6 \leqslant \leqslant H_m$). Здесь H_m — мера сложности (число состояний) или максимальная неопределенность, на выходе которой проявляются функциональные особенности биосистемы, поэтому степень функциональной сложности зависит от характера ее выходных величин. Со сложностью связаны многомерность и многосвязность системы, проявляющиеся в наличии большого количества параметров и связей между ними. Если нельзя оценить многокомпонентность выхода, находят результирующий параметр, взаимосвязывающий действие обособленных подсистем, каждая из которых оценивается своим параметром.

Внутренней структурой биологической системы обусловлена ее организация — структурно-функциональная упорядоченность. Организация системы выявляется путем подсчета меры неопределенности ее состояний, характеризующей ее неопределенность. В момент полной дезорганизации (равные возможности системы перейти в любое иное состояние) мера неопределенности полностью совпадает с мерой сложности. По уровню организации биосистемы квалифицируются как детерминированные системы ($0{,}3 < R \leqslant 1$), квазидетерминированные ($0{,}1 < R \leqslant 0{,}3$) и вероятностные ($0 < R \leqslant 0{,}1$). Здесь R определяет организацию принятия системой числа состояний (H_m). Выявив классификационные признаки биосистемы, тем самым получаем возможность использовать соответствующий математический аппарат, адекватный функциональным особенностям системы. Так, для описания простых и сложных детерминированных систем применимы алгебраическое описание, аппарат дифференциальных уравнений и теории автоматического уравнения; для простых и сложных вероятностно-детерминированных — нелинейные дифференциальные и параметрические уравнения, коэффициенты которых подчиняются некоторым законам распределения; для простых и сложных вероятностных систем — теория марковских и случайных процессов, алгебраические и дифференциальные уравнения, теории автоматов; для очень сложных вероятностных биосистем — энтропийные оценки сложности и организации (информационный анализ). Так, биофизические модели нервной клетки можно адекватно описать математическим аппаратом для детерминированных систем; биосистемы, определяющие взаимодействие анализаторов и поведенческие реакции, включая процесс обучения при простых условнорефлекторных актах и сложных взаимодействиях,— математическими методами для вероятностных систем.

Таким образом, задача идентификации математического аппарата исследования биосистемы определяется лишь ее свойствами и в меньшей мере зависит от предвзятости исследователя.

Экспериментальное исследование биосистемы заключается в воздействии входных величин (вещества, физические и психические факторы) и изучении изменения выходных величин (концентрация препарата, изменение кинетики процесса, поведенческие реакции). Поэтому по соотношению входных и выходных величин в эксперименте возможны четыре случая: одномерно-одномерный (один входной и один выходной показатель), многомерно-одномерный, одномерно-многомерный и многомерно-многомерный. Необходимо учитывать, что такие качества входных воздействий, как дискретность и непрерывность, интенсивность, однократность и многократность характеризуют один и тот же выход. Важной задачей при этом является стабилизация условий проведения эксперимента с целью уменьшения информационного шума, искажающего результаты.

Примером одномерно-одномерного воздействия детерминированной системы может служить зависимость между дозой фармакологического вещества и каким-либо одним функциональным проявлением (эффектом) — зависимость доза — эффект. Аппроксимация ее должна основываться на выявленной форме функциональной зависимости между входной величиной и математическим ожиданием выходной переменной, т. е. может описываться прямой, параболой, гиперболой, экспонентой или полиномом. Обязательным при этом является аппроксимация с минимальной погрешностью, что в данном случае можно достичь, выбирая коэффициенты по методу наименьших квадратов. Использование регрессионного и корреляционного анализов [99] позволяет получить коэффициенты адекватной математической модели. Данные методы являются наиболее широко используемыми в анализе результатов фармакологических исследований [52, 59, 90]. Коэффициенты анализа характеризуют чувствительность биосистемы по отношению к входному воздействию и являются инструментом для оценки состояния в норме и изменений при патологии, позволяют выразить локализацию патологии в общей системе и ее размер. Однако следует помнить, что адекватность регрессионных моделей относительна, так как с помощью коэффициентов регрессии можно лишь количественно оценить роль фактора в общем изменении исследуемого показателя. В этом случае подбор наилучшей функции может быть адекватным описанием системы лишь в случае глубокого знания функционирования последней. Для выбора математической модели при многомерно-одномерном и многомерно-многомерном случаях необходимы учет неравнозначности факторов и ввод в этой связи весовых коэффициентов факторов. При оценке комбинированного действия факторов существенный вклад может оказать применение дисперсионного анализа.

Оценка выходных показателей биосистемы корректна в случае знания закона распределения изучаемых величин. Вместе с тем сложность и динамичность биологических объектов приводят к асимметрии нормального распределения, часто неподдающейся количественному выражению. Дисперсионный анализ является наиболее удобным методом в данном случае, поскольку отклонение от предполагаемого нормального закона распределения не вносит значительной ошибки.

В работах [7, 19, 161] приведен анализ результатов фармакологического эксперимента с помощью дисперсионного анализа, однако авторы в недостаточной мере используют полученные параметры для оценки роли того или иного фактора. Приложимость одно- и многофакторного анализов к результатам фармакологического эксперимента наглядно проиллюстрирована в статье [87].

Дисперсионный анализ результатов показал степень влияния не только изучаемых факторов, но и вклад нерегулируемых факторов, опосредованных биологической вариабельностью экспериментальных животных. К сожалению, очень редко используется вариант дисперсионного анализа — сравнение средних уровней процесса и непараллельности, хотя именно изучение всего цифрового массива, где можно учесть неравноточность величин и определить вклад каждого экспериментального значения (вес), позволяет в значительной мере уменьшить влияние нерегулируемых факторов и получить адекватные параметры модели. В настоящей работе использование данного варианта анализа показано в разделе 5.3.

Большие перспективы в оценке сложных многомерно-многомерных случаев открывает использование информационного анализа, который обладает высокой степенью абстрактности и вместе с тем допускает количественную интерпретацию. Этот метод также позволяет оценить взаимодействие биосистем между собой и окружающей средой. Последнее особенно важно для фармакологии, изучающей состояние организма в норме и патологии и корректирующей с помощью входных воздействий то или иное патологическое состояние.

Описанные выше методологические подходы к описанию результатов сложных биологических систем обладают высокой прогностической способностью, приложимостью результатов экспериментальной фармакологии к клиническим.

5.3. Принципы функционирования ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля

В основе изучения принципов функционирования ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля в физиологических условиях лежат предположения о том, что его модификации хлорной проводимости, вызываемой воздействиями экзогенных лигандов, в конечном итоге отражаются на регистрируемых показателях (выходных величинах) всего организма. Основные выводы, полученные при исследовании функций ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля в молекулярно-биологических, биохимических и других изысканиях in vitro, могут быть использованы в качестве параметров подсистем при моделировании процессов на целостном организме.

Существует большой объем непротиворечивой информации о принципах функционирования и структуре ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля, использование которой в аналитическом аппарате эффекторного анализа может расширить некоторые его возможности.

Конформационно-равновесная модель функционирования ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля. В работе [48] показано, что связывание ГАМК с ГАМК-БД-рецепторно-ионофорным ансамблем клеточных мембран коры головного мозга быка протекает трехфазно, с равновесными постоянными диссоциации ансамбля ($K_Д \approx 1$; 0,1; 0,01 мкмоль). В обзоре [36] отмечено, что ГАМК-рецептор существует в трех конформационных состояниях (R, R′ и R″), имеющих неодинаковые физико-химические свойства, в частности, различные сродство к ГАМК, стабильность и функциональное состояние хлорного канала. Здесь R′ — нестабильная форма с открытым хлорным каналом; R — метастабильная с закрытым; R″ — стабильная (десенситизированная) форма с закрытым хлорным каналом.

В обзорных статьях [30, 67] рассматриваются кинетические модели рецепции, предполагающие циклический переход БДР между двумя связывающими конформациями, влияние ГАМК на стабильность комплекса (лиганд — рецептор). Обсуждается возможность описания фармакологического эффекта агонистов, антагонистов, обратных агонистов (частичных, позитивных и негативных антагонистов по терминологии [30]). Сделан вывод о том, что БДР существует в трех конформациях (A, B, C), фармакологические свойства БД, их антагонистов и обратных агонистов обусловлены преимущественным переходом комплекса (лиганд — B-форма БДР) в конформационные состояния A, C или стабилизацией B-конформации. A-форму авторы определяют как «способствующую» открытию хлорного канала, C — как стабильную десенситизированную. В связи с этим можно предположить, что ГАМК-БД-рецепторно-ионофорный ансамбль (или его часть), включающий в себя БДР и собственно ГАМК-рецептор, существует в трех конформационных формах: R — форма ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля, адекватная комплексу в B-формой БДР субъединицы, R′ — A- и R″ — C-формам с соответствующими постоянными диссоциации конформеров комплекса с ГАМК $K_B \approx 1$ мкмоль, $K_A \approx 0{,}1$ мкмоль и $K_C \approx 0{,}01$ мкмоль.

В обзоре [74] предполагается, что механизм активизации хемовозбудимых ионных каналов состоит в связывании агониста (A) с рецептором (P) (быстрый процесс) и медленном (лимитирующем скорость активизации) обратном переходе комплекса рецептора с агонистом (AP) в активированную форму (AP*) с открытым каналом:

$$\mathrm{A} + \mathrm{P} \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} \mathrm{AP} \underset{\alpha}{\overset{\beta}{\rightleftarrows}} \mathrm{AP}^*,$$

где β и $\alpha \ll k_1$, а также k_{-1} — постоянные скоростей соответствующих процессов.

Предполагается существование трех конформационных состояний рецептора: энергетически устойчивого с низким сродством к агонисту ($P_т$); энергетически неустойчивого с высоким сродством к агонисту ($P_р$) и рефрактерного (десенситизированного) состояния (P_R) со сверхвысоким сродством к агонисту. Автор предполагает следующие конформационные переходы в условиях образования и распада комплек-

са агониста с рецепторно-канальным ансамблем:

$$P_т \rightleftharpoons P_R \rightleftharpoons \underset{\diagup \atop A}{P_R A} \underset{\alpha}{\overset{\beta}{\rightleftharpoons}} P_R^* A \underset{k_{-р}}{\overset{k_р}{\rightleftharpoons}} P_р A.$$

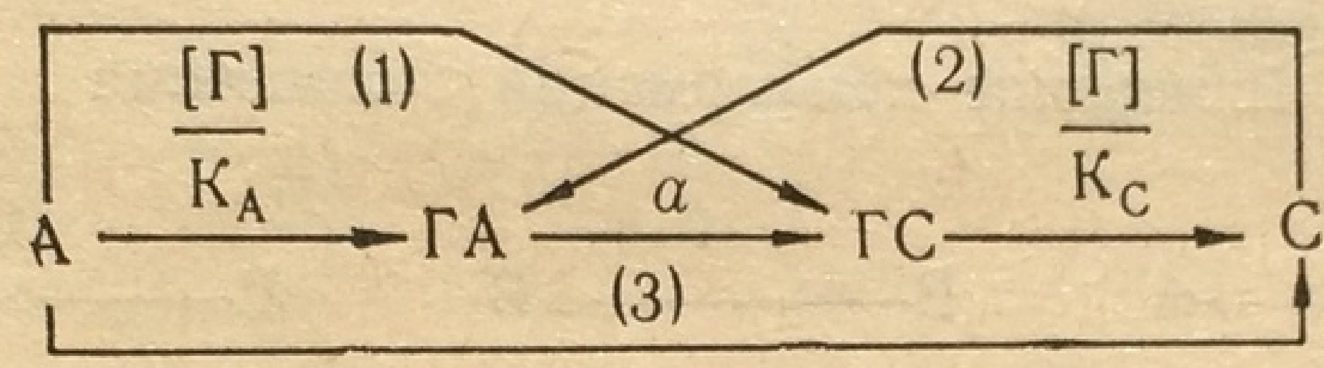
Согласно схеме обсуждаются механизмы взаимодействия конкурентных антагонистов, неконкурентных, аллостерических и независимых модуляторов с рецепторно-канальным ансамблем и его комплексом с агонистом. Применительно к ГАМК-рецептору в работе [74] соотнесены: конформер $P_т$ — с формой $K_B \approx 1—3$ мкмоль (В-форма); конформер P_R — с формой $K_A \approx 0{,}1—0{,}3$ мкмоль (А-форма); $P_р$ — с С-формой (согласно обозначениям в работе [64]). С указанных позиций рассматривается механизм действия БД и барбитуратов. Существенным ограничением схемы, предложенной в работе [74], является отсутствие предложений о возможности конформационных переходов между формами комплекса — рецептора с агонистами $P_R A$ и $P_т A$, а постулируются только превращения $P_т \rightleftharpoons P_R$ и $P_R A \rightleftharpoons P_R^* A \rightleftharpoons P_р A$. В связи с этим невозможно четкое разграничение отличий в механизмах действия БД, β-карболинов, Ro 15—1788 и гармана. В противоположность этому, в работе [36] приведены условия, в которых протекают взаимопревращения $R'' \xrightarrow{-\text{ГАМК}} R$; $R \xrightarrow{+\text{ГАМК}+\text{БД}} R'$ и $R'' \xrightarrow[\text{+ БД (хронически)}]{\text{+ ГАМК}} R''$ и обратные процессы. К недостаткам схемы, приведенной в статье [36], следует отнести нечеткость разграничения понятий конформационных состояний ГАМК-рецептора и понятия комплексов ГАМК-рецептора с ГАМК в соответствующих конформациях. В условиях приведенной автором [36] схемы «теоретических» свойств ГАМК-БД-комплекса, в противоположность выводам [48, 74], форме R′ приписано наиболее низкое сродство к ГАМК. Из опытных данных работы [14] следует, что ГАМК-рецепторный комплекс существует в трех конформациях с различной проводимостью хлорного канала: *a* — 24, *b* — 14 и *c* — 4 pS; процесс открытия — закрытия хлорного канала быстрый, десенситизация ГАМК-зависима и является существенно более медленным процессом.

Рассмотренные работы позволяют заключить, что существует (как минимум) шесть возможных состояний ГАМК-рецептора и комплекса последнего с ГАМК в физиологических условиях: три конформационных формы (А, В и С), а также комплексы указанных форм с ГАМК. Ввиду того, что у нас нет оснований предполагать отсутствие возможности взаимопревращения конформеров при образовании и распаде комплексов с ГАМК, а также отсутствие возможности взаимопревращения конформеров (и их комплексов с ГАМК) вне процессов образования (распада) комплексов, мы вынуждены остановиться на самом общем варианте схемы функционирования ГАМК-рецепторного комплекса.

Анализ особенностей проявления фармакологических эффектов экзогенных лигандов, опосредованных функцией ГАМК-БД-ре-

цепторно-ионофорного ансамбля in vivo, обусловленной его внутренней структурой, физико-химическими свойствами (в частности, конформационными изменениями), в настоящей работе осуществлен при соотнесении опытных данных и предлагаемой ниже конформационно-равновесной модели взаимодействия ГАМК и ГАМК-рецептора.

Допуская возможность свободного взаимопревращения указанных форм (А, В, С) и их комплексов с ГАМК (АГ, ВГ, СГ) в присутствии последней (Г), исходя из данных о значениях величин равновесных постоянных связывания (K_A, K_B и K_C), приведенных в работах [31, 74], и предположив, что все конформации комплекса находятся в состоянии динамического равновесия или стационарном состоянии, мы можем, пользуясь диаграммным методом кинетики квазистационарных состояний (упрощенный метод графов [94]), предположить, что



где $\frac{[Г]}{K_A}$ и $\frac{[Г]}{K_C}$ — постоянные равновесия процессов образования комплексов (ГА и ГС); стрелками обозначены дуги равновесия. Приписав постоянной равновесия процесса ГА $\xrightarrow{a}$ ГС величину (a), мы из принципа микроскопической обратимости процессов можем выразить постоянные равновесия процессов (1), (2) и (3) как $a\,\frac{[Г]}{K_A}$ $\frac{1}{a}$ $\frac{[Г]}{K_C}$ и $\frac{K_C}{K_A}\,a$ (значения величин K_A, K_B и K_C см. выше). Приписав постоянной равновесия процесса (ВГ $\xrightarrow{b}$ ГА) значение (b), а следовательно,— процесса (ВГ $\xrightarrow{ab}$ СГ), можно охарактеризовать все состояния ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля, исходя из трех экспериментально известных величин (K_A, K_B и K_C), а также двух введенных нами величин (a и b), описывающих соотношение конформеров АГ, ВГ и СГ (см. схему 2).

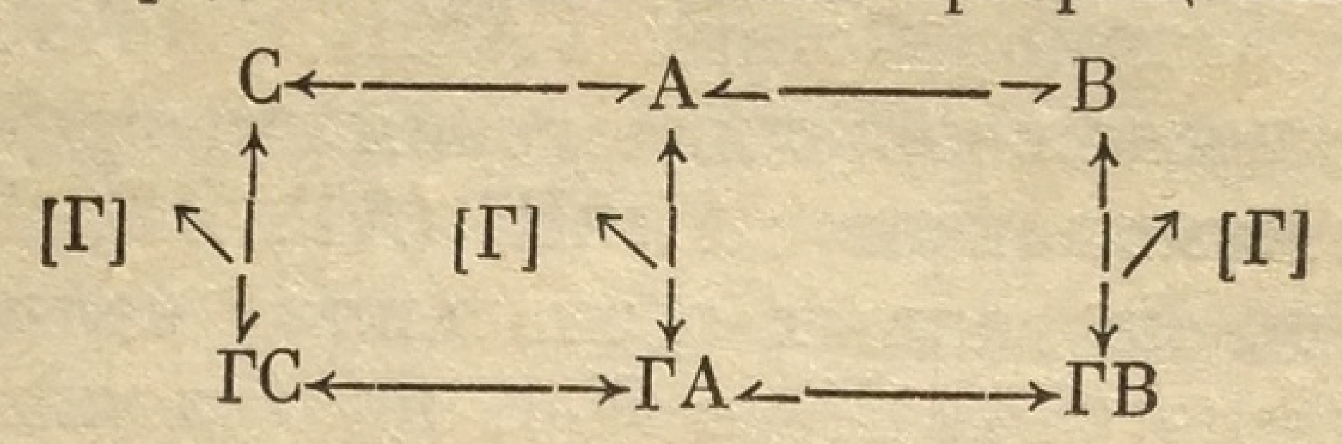
Предположив, что количество рецепторов в активированном состоянии (открытый хлорный канал) является функцией (вероятностью) конформационного состояния комплекса ГАМК-рецептора с ГАМК и хлорная проводимость в основном определяется содержанием АГ, можно описать основные типы модификации ГАМК-рецептора (как и основные классы соединений — модификаторов) в терминах значений величин постоянных равновесия конформационных состояний и их изменений под влиянием экзогенных лигандов.

Предварительно рассмотрим два крайних случая в состояниях ГАМК-рецепторного комплекса: в отсутствие ГАМК (схема 3а) и в присутствии избытка ГАМК в среде (схема 3б). Из работы [36] следует, что в отсутствие ГАМК преобладающей конформацией ГАМК-рецептора является В-форма. При избытке ГАМК в среде преобладает десенситизированная форма рецептора (С-конформация). Оба процесса повышения хлорной проводимости мембран под влиянием

10 7–2934

С х е м а 2. Процессы превращения конформеров ГАМК-рецепторов комплекса

Предполагаемая схема превращений



Постоянные равновесия комплекса

Изменение конформации равновесия

$\text{А} \xrightarrow{1} \text{А}$	$\text{В} \xrightarrow{1} \text{В}$	$\text{С} \xrightarrow{1} \text{С}$
$\text{А} \xrightarrow{\frac{1}{a}\,\frac{K_{\text{В}}}{K_{\text{А}}}} \text{В}$	$\text{В} \xrightarrow{b\,\frac{K_{\text{А}}}{K_{\text{В}}}} \text{А}$	$\text{С} \xrightarrow{\frac{1}{ab}\,\frac{K_{\text{В}}}{K_{\text{С}}}} \text{В}$
$\text{А} \xrightarrow{\frac{1}{a}\,\frac{K_{\text{С}}}{K_{\text{А}}}} \text{С}$	$\text{В} \xrightarrow{a\,\frac{K_{\text{С}}}{K_{\text{А}}}} \text{С}$	$\text{С} \xrightarrow{\frac{1}{a}\,\frac{K_{\text{А}}}{K_{\text{С}}}} \text{А}$

Изменение конформации комплекса рецептор-ГАМК

$\text{ГА} \xrightarrow{1} \text{ГА}$	$\text{ГВ} \xrightarrow{1} \text{ГВ}$	$\text{ГС} \xrightarrow{1} \text{ГС}$
$\text{ГА} \xrightarrow{a} \text{ГС}$	$\text{ГВ} \xrightarrow{b} \text{ГА}$	$\text{ГС} \xrightarrow{\frac{1}{a}} \text{ГА}$
$\text{ГА} \xrightarrow{\frac{1}{b}} \text{ГВ}$	$\text{ГВ} \xrightarrow{ab} \text{ГС}$	$\text{ГС} \xrightarrow{\frac{1}{ab}} \text{ГВ}$

Образование комплексов рецептор-ГАМК *

$\text{А} \xrightarrow{\frac{\text{Г}}{K_{\text{А}}}} \text{ГА}$	$\text{В} \xrightarrow{\frac{\text{Г}}{K_{\text{В}}}} \text{ГВ}$	$\text{С} \xrightarrow{\frac{\text{Г}}{K_{\text{С}}}} \text{ГС}$
$\text{А} \xrightarrow{\frac{1}{b}\,\frac{\text{Г}}{K_{\text{А}}}} \text{ГВ}$	$\text{В} \xrightarrow{b\,\frac{\text{Г}}{K_{\text{В}}}} \text{ГА}$	$\text{С} \xrightarrow{\frac{1}{a}\,\frac{\text{Г}}{K_{\text{С}}}} \text{ГА}$
$\text{А} \xrightarrow{a\,\frac{\text{Г}}{K_{\text{А}}}} \text{ГС}$	$\text{В} \xrightarrow{ab\,\frac{\text{Г}}{K_{\text{В}}}} \text{ГС}$	$\text{С} \xrightarrow{\frac{1}{ab}\,\frac{\text{Г}}{K_{\text{С}}}} \text{ГВ}$

* Распад комплексов осуществляется при значениях величин постоянных равновесия, обратных приведенным.

аппликаций ГАМК и последующее (в результате десенситизации рецепторов) ее снижение осуществляются двухфазно [14], что свидетельствует о параллельном образовании комплекса $А \underset{}{\xrightarrow{\frac{Г}{K_А}}} АГ$ и конформационном переходе $ВГ \xrightarrow{b} АГ$, а также (в фазе десенситизации) процессе $АГ \xrightarrow{a} СГ$ и $АГ \xrightarrow{\frac{1}{b}} ВГ$:



На схеме 3 дуги процессов изображены так, чтобы все постоянные равновесия были больше единицы. Из схемы 3 (а) следует, что $a < \frac{K_А}{K_С} \approx 10$, $b < \frac{K_В}{K_А} \approx 10$, $ab < \frac{K_В}{K_С} \approx 100$, а из схемы 2 (*б*) — $a > 1$, $b > 1$, $1 < ab > a$ и b. Следовательно, $10 > a, b > 1$ и $100 > ab > 1$.

Исходя из предложенной схемы несложно все физиологические явления, обусловленные введением модификаторов ГАМК-рецепторного комплекса, отнести к одному из указанных ниже восьми типов модификации функционального состояния ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля, представляющих четыре конкурентные (противоположные) пары (табл. 5.8), вернее, комплекса (ГАМК-рецептор-ГАМК), так как функциональное состояние последнего определяет проводимость хлорного канала (эффектора рецепторно-канального ансамбля). Соединения, относящиеся к противоположным (конкурентным) типам действия, должны демонстрировать конкурентный по форме антагонизм, однако с тем отличием от классической в фармакологическом эксперименте пары агонист — антагонист (первый член которой обладает способностью вызывать фармакологический эффект, а второй собственного фармакологического действия не оказывает, но влияет на выраженность эффекта агониста), что оба соединения могут давать фармакологический эффект (+ либо —). Следует подчеркнуть, что экзогенные лиганды ГАМК-рецептора вообще не могут быть формализованы в терминах «агонист — антагонист». Практически все соединения, оказывающие влияние на процессы взаимо-

Т а б л и ц а 5.8. Характеристика основных типов модификаций конформационного состояния ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля экзогенными лигандами

Тип	№	Изменение (уменьшение ↓ и увеличение ↑) постоянных равновесия процессов (*a*, *b*)	Сдвиги процессов равновесия *	Последствия изменений параметров процессов равновесия комплексов	Характеристика типов фармакологического действия соединений-лигандов ГАМК-рецептора
I	1	*a* ↑, *b* ↑	ГС←ГА←ГВ ↑______|	Усиление десенситизации	Частичные агонисты БДР (РК 81 165, РК 9084, триазолпиридазины, CL 218 872)
	2	*a* ↓, *b* ↓	ГС→ГА→ГВ |______↑	Снижение десенситизации	Частичные антагонисты БДР (FG 7142)
II	3	*a* ↓, *b* ↑	ГС→ГА←ГВ |______|	Стабилизация А-формы	Агонисты активированной формы рецепторно-канального ансамбля (барбитураты, пиразолпиридины, этанол?)
	4	*a* ↑, *b* ↓	ГС←ГА→ГВ |______|	Дестабилизация А-формы	Антагонисты активированной формы рецепторно-канального ансамбля (коразол, пикротоксин)
III	5	*a* const, *b* ↓	ГС—ГА←ГВ ↑______|	Дестабилизация В-формы	Агонисты БДР (1,4-бензодиазепины, 1,5-бензодиазепины)
	6	*a* const, *b* ↓	ГС—ГА→ГВ |______↑	Стабилизация В-формы	Антагонисты БДР (Ro 15—1788, CGS 8216)
IV	7	*a* ↑, *b* const	ГС←ГА—ГВ ↑______	Стабилизация С-формы	Обратные агонисты БДР (β-карболины)
	8	*a* ↓, *b* const	ГС→ГА—ГВ |______↑	Дестабилизация С-формы	Этанол?

* Стрелками обозначено направление сдвига равновесия соответствующих процессов.

действия экзогенных лигандов со структурами ГАМК-рецептора, обладают собственным фармакологическим действием.

Проявляемые лигандами формы антагонизма не зависят от совпадения или различий мест их рецепции на субъединицах комплекса, а определяются различиями направленности изменений (сдвигов) условий равновесия конформеров, вызываемых их рецепцией. Среди физиологически активных лигандов ГАМК-рецепторного комплекса можно отметить две группы соединений, обладающих антагонистическими свойствами: пикротоксин, коразол (судорожные агенты) и барбитураты, пиразолопиридины (противосудорожные, снотворные соединения). Ко второй группе относятся производные БД (противосудорожные агенты, транквилизаторы), некоторые производные β-карболина с судорожными анксиогенными эффектами (метил-β-карболин-3-карбоксилат), антагонисты БДР (Ro 15—1788). Из литера-

турных данных следует, что барбитураты понижают скорость перехода ГА $\xrightarrow{a}$ ГС (a) [14, 48, 74], с другой стороны, исходя из выводов работ [36, 64] БД, метил-β-карболин-3-карбоксилат и Ro 15—1788 могут быть однозначно отнесены к типам 5—7 (табл. 5.8) как дестабилизаторы B-формы рецептора БД, стабилизаторы B-формы рецептора (Ro 15—1788) и стабилизаторы C-формы метил-β-карболин-3-карбоксилат. В связи со сказанным, барбитураты можно отнести к типу 3 модификаторов, а пикротоксин и коразол — к конкурентному ему типу 4 действия. Судорожное действие некоторых производных β-карболина (FG 7142, ZK 91296), а также анксиолитическое, но конкурентное противосудорожным эффектам БД действие производных хинолина (PK 8165, PK 9084) и производного триазолпиридазина (CL 218872) определены как эффекты частичных антагонистов и агонистов БД [29] и должны быть отнесены ко второму и первому типам модификации (см. рис. 5.14). Ввиду того, что этанол повышает связывание диазепама с рецептором [43] и его эффекты блокируются пикротоксином [25], можно предположить третий или восьмой типы модификации конформационного равновесия ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля в условиях воздействия этанола.

Элементы анализа функциональной кооперативности субъединиц ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля. Представленная выше система, основанная на результатах исследований фармакологии экзогенных лигандов ГАМК-рецептора и некоторых биохимических работ,— начальный этап в структурно-функциональном анализе данных с целью получения углубленного знания о принципах функционирования ГАМК-рецептора. Учет приведенных особенностей конформационных состояний ГАМК-рецептора и соответствующая типизация функций его модуляторов недостаточны для описания количественных характеристик фармакологического действия экзогенных лигандов. ГАМК-БД-рецепторно-ионофорный ансамбль является многокомпонентной супрамолекулярной структурой с несколькими (тремя?) типами рецепторов (ГАМК, ее агонисты и бикукуллин; БД, их антагонисты и обратные агонисты; место конкурентного взаимодействия барбитуратов и пикротоксина). Сложность структуры ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля, кооперативность функций его субъединиц оказывают влияние на количественные показатели фармакологических эффектов экзогенных лигандов и характер их взаимодействия, основные черты которого рассмотрены ниже.

В результате радиолигандных исследований [9, 34, 36, 64, 67, 68] и при использовании методов фотоаффинной метки БДР [9, 36] установлено четыре места связывания БД на структуре ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля. Отношение количества мест связывания БД к таковому ГАМК составляет 1 : 2 [9, 64, 67, 68]. В результате указанных исследований утвердилось мнение о «квартетной» модели ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля, представленной четырьмя субъединицами, состоящими из трех взаимодействующих молекул (БДР и двух ГАМК-рецепторов) или одной молекулы, обладающей одним местом связывания БД и двумя местами связывания ГАМК [64, 68]. Приведенные молекулярно-биологические данные (и

сделанные на их основании выводы) согласуются с результатами фармакологических исследований. Исследования индуцированного ГАМК-ионного (хлорного) тока через нейрональную мембрану [14], вызываемой ГАМК деполяризации дорзальных корешков спинного мозга [69], а также других проявлений ГАМК-зависимого ответа в опытах in vitro [16, 18] демонстрируют кривые зависимости доза — эффект, описываемые уравнением Хилла с коэффициентом $n = 1,7-2$. В данном случае следует подчеркнуть, что регистрируемой величиной является фармакологический эффект, а не образование комплекса ГАМК-рецептор — ГАМК. В фармакологии [56, 76, 162] обычно используют логитанализ, приводящий к окончательным выражениям, аналогичным уравнению Хилла [56, 94, 159], и интерпретирующий характерную (степенную) зависимость эффекта от концентрации фармакологического агента как результат процесса

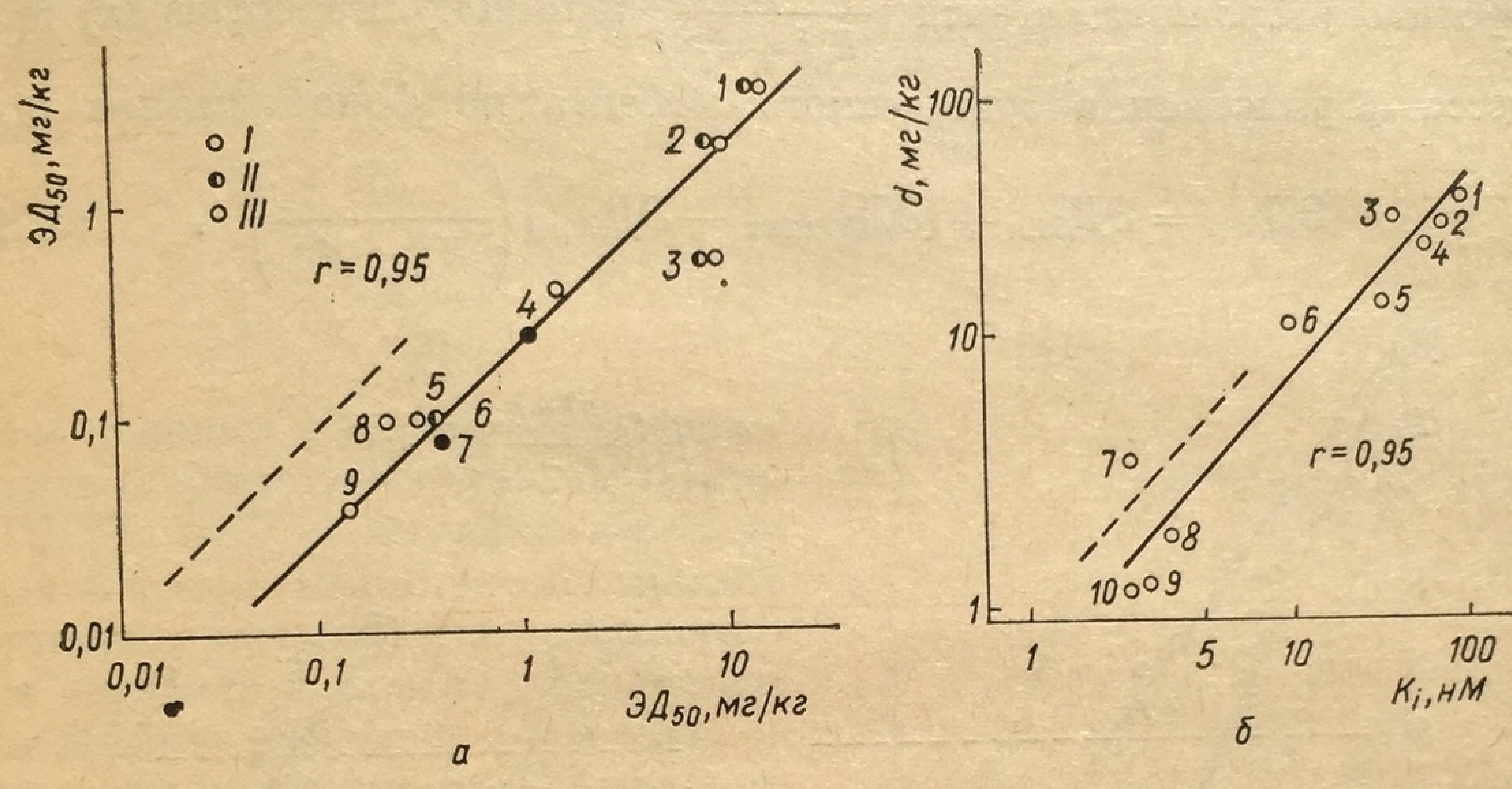
$$nS + R \xrightarrow{\frac{[S]^n}{k}} S_nR \rightarrow \text{эффект},$$

при котором эффект реализуется в результате взаимодействия (n) молекул лиганда (S) с системой рецептор (рецепторы) — эффектор (R). Можно предположить, что рецепция двух молекул ГАМК на структурах ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля изменяет функциональное состояние (проводимость) эффектора (хлорного канала). В то же время в опытах in vitro [69], а также в наших многочисленных исследованиях in vivo [81, 82, 86, 88] (рис. 5.17, 5.22) показано, что зависимости доза — эффект и концентрация — эффект производных БД — гиперболы первого порядка.

На рис. 5.25 представлены данные о взаимосвязи величин концентраций полувытеснения (IC_{50}) ^{3}Н-диазепама (*б* и *в*) в опытах in vitro и доз ($ЭД_{50}$), вызывающих полувытеснение ^{3}Н-флюнитразепама в опытах in vivo (*а*) с БДР, полуэффективных доз ($ЭД_{50}$) (*а* и *б*) и суточных доз (*в*) по различным фармакологическим эффектам для производных БД. Ввиду того, что регистрация соответствующих эффективных доз БД для различных фармакологических показателей (миорелаксация, противосудорожный, снотворный эффекты) осуществляется при различной степени «оккупации» молекулами БД БДР in vivo [9], линейные регрессии логарифмов значений приведенных показателей (с коэффициентами регрессий, равными или близкими единице) однозначно свидетельствуют о мономолекулярной природе взаимодействия БД с рецептором при формировании фармакологического эффекта. В связи со сказанным можно утверждать, что элементарный функциональный блок ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля содержит одно место связывания БД и два таковых ГАМК. Модификация одного из четырех функциональных блоков ансамбля вызывает фармакологический эффект (изменение проводимости хлорного канала).

Исходя из изложенного целесообразно рассмотреть некоторые особенности развития фармакологического эффекта, связанного с воздействием экзогенных лигандов на элементы функционального блока

ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля. Бикукуллин является единственным известным конкурентным антагонистом ГАМК [9, 34, 68, 163] и используется в фармакологических исследованиях in vivo и in vitro [4, 6, 15, 16, 18, 59, 71, 104, 120]. Некоторые элементы взаимодействия бикукуллина и БД на структурах ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля (функциональных блоках) могут быть исследованы на основании опытов in vivo.



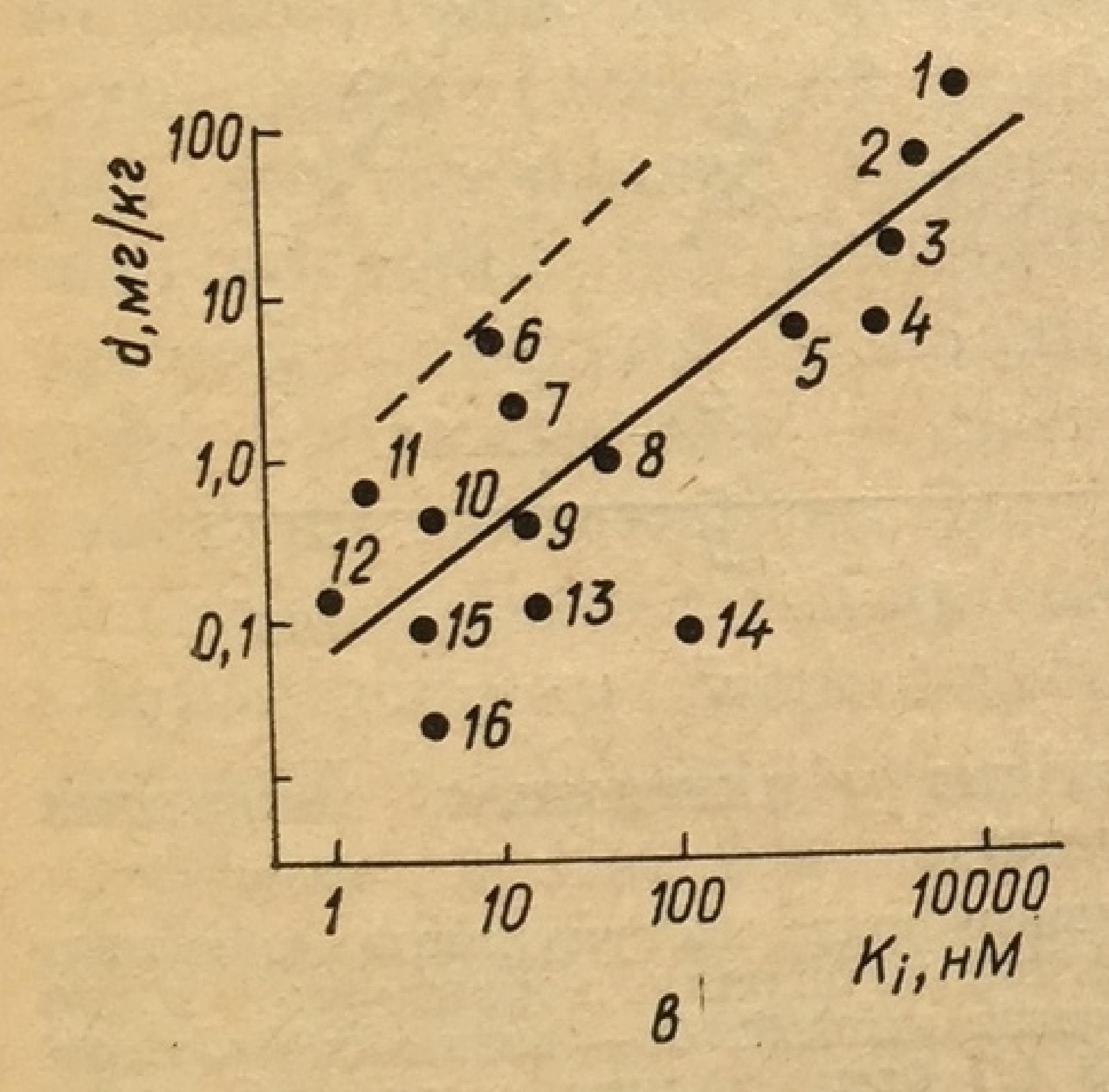


Рис. 5.25. Корреляционная зависимость между:

а — «оккупацией» in vivo БДР ($ЭД_{50}$) (*I* — подкожное, *II* — в/б, *III* — в/в введение) и противосудорожной активностью БД: *1* — хлордиазепоксид, *2* — зопиклон, *3* — оксазепам, *4* — диазепам, *5* — лоразепам, *6* — флюнитразепам, *7* — Ro 6896, *8* — триазолам, *9* — клоназепам [9]; *б* — способностью вытеснять ^3H-диазепам (K_i) и суточной снотворной дозой БД (d): *1* — бромазепам, *2* — темазепам, *3* — флюразепам, *4* — оксазепам, *5* — нитразепам, *6* — диазепам, *7* — лоразепам, *8* — флюнитразепам, *9* — лорметазепам, *10* — триазолам [20]; *в* — способностью различных БД (*1—16* — комерческие препараты, аналогичные приведенным в *а* и *б*) вытеснять ^3H-диазепам (K_i) и фармакологической активностью (мышечное расслабление) при пероральном введении препаратов кошкам [67]

Распределение вероятности развития регистрируемых фармакологических эффектов (ДКТС, ДТЭ) бикукуллина показано на рис. 5.26, *а*. Как видим из опытных данных, распределение указанных показателей (накопленные частоты минимальных эффективных доз) линейно относительно величин, обратных вводимым дозам бикукуллина. Данная форма зависимости аналогична наблюдаемой ранее при внутривенной инфузии коразола и предполагает гиперболические (гиперболы первого порядка) функции доза — эффект и концентрация — эффект (уравнения (5.7) и (5.8)), обусловленные линейным возрастанием концентрации относительно пороговой (с дисперсией, пропорциональной величине показателя).

Рассмотрим характер изменения $ЭД_{50}$ коразола и бикукуллина на фоне введения противосудорожных агентов. Значение $ЭД_{50}$ на фоне

введения d_i БД (ЭД$_{50}$) превращает эту величину в контрольной группе (ЭД$_{50,к}$) на некоторое значение в пределе, стремящееся к величине ЭД$_{50,\max}$ — ЭД$_{50,к}$, где ЭД$_{50,\max}$ — максимальный противосудорожный эффект, наблюдающийся при введении $d_i \to \infty$ дозы БД. Форма возрастания значения ЭД$_{50,i}$ определяется природой (сродством к рецептору (K_d) и молекулярностью процесса (m) рецепции) противосудорожного агента $\left(\dfrac{d_i^m}{K_d^m + d_i^m}\right)^n$ и молекулярностью (n) процесса формирования судорожного эффекта на фоне влияния (d_i):

$$ЭД_{50,i} = ЭД_{50,к} + (ЭД_{50,\max} - ЭД_{50,к}) \left(\frac{d_i^m}{K_d^m + d_i^m}\right)^n. \qquad (5.22)$$

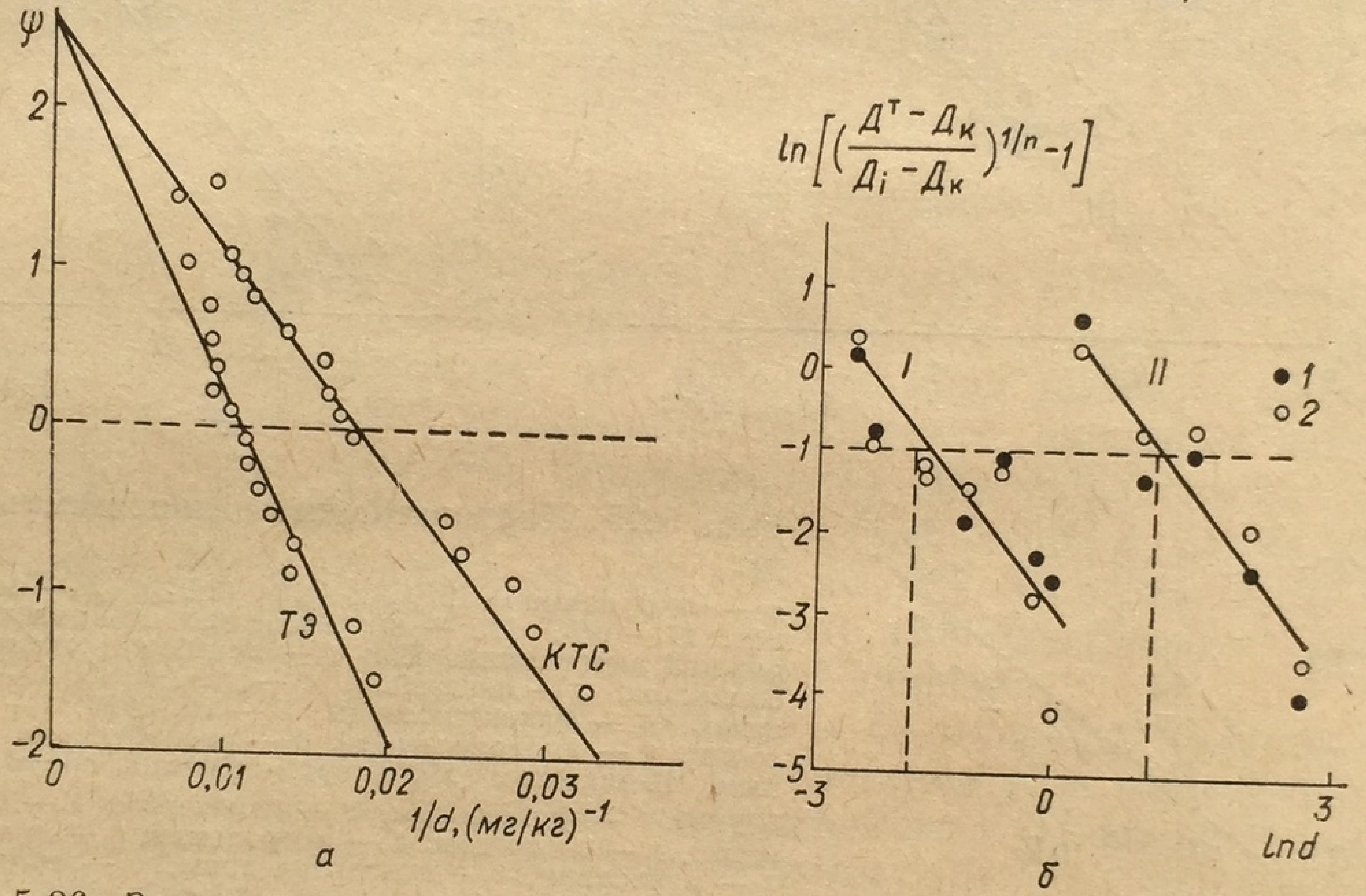


Рис. 5.26. Зависимость доза — эффект бикукуллина у интактных животных и на фоне введения производных 1,4-бензодиазепина:

а — кривые зависимости доза (минимальные эффективные дозы бикукуллина (обратные величины d)) — эффект (выраженный функцией, обратной интегралу вероятности Ψ) по показателям ТЭ и КС бикукуллина в контрольной группе мышей; *б* — взаимосвязь изменений значений логарифмов величин ДКТС (*1*) и ДТЭ (*2*) бикукуллина в опытных группах мышей (Д$_i$) относительно контрольных (Д$_к$) и расчетных максимальных величин (Д^т), а также вводимых доз (d) феназепама (*I*) и 1,2,4,5-тетрагидрофеназепама (*II*) при $n = 2$

Показатель степени m для БД и барбитуратов в наших исследованиях был равен единице (что подтверждает предполагаемую структуру элементарного функционального блока ГАМК-рецепторного комплекса). В связи с этим в последующих выражениях написание m опускается. Зависимости доза — эффект и концентрация — эффект коразола (на фоне возрастающих доз БД) описываются уравнением (22) с показателем степени n, равным единице (рис. 5.8, 5.22 и 5.23). Основываясь на положениях конформационно-равновесной модели ГАМК-рецептора и понятия «элементарного функционального блока» ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля, можно предположить, что взаимодействие одной молекулы коразола с функциональным блоком

ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля дестабилизирует его А-конформационное состояние (см. табл. 5.8); взаимодействие одной молекулы БД дестабилизирует В-форму. Процессы модификации функций указанного ансамбля при одновременном воздействии БД и коразола (К) протекают в соответствии со схемой гиперболической модификации конформационных состояний:

$$[\text{ГА}]\,[\text{БД}] \xleftarrow[K_3]{[\text{БД}]} [\text{ГВ}] \xrightarrow[K_4]{[\text{К}]} [\text{ГС}]\,[\text{К}]$$

$$[\text{ГА}]\,[\text{БД}] \xrightarrow[{[\text{К}]}]{K_1} [\text{ГС}]\,[\text{К}]\,[\text{БД}] \xrightarrow[{[\text{БД}]}]{K_2} [\text{ГС}]\,[\text{К}]$$

при условии $K_3 > K_2$. Подтверждением существования комплекса [ГС] [К] [БД] в десенситизированной С-форме является смешанный (гиперболический) тип антагонизма коразола к противосудорожному эффекту БД (рис. 5.27) ($ЭД_i$ — по показателю процент защиты от судорожного действия возрастающих доз коразола). Гиперболическая модификация [94, 159] судорожного действия коразола (логарифм вводимых доз — эффект (накопление частоты)) на фоне введения барбитурата и БД проявляется в параллельном сдвиге вправо кривых доза — эффект (рис. 5.28). Бикуккуллин и БД (см. рис. 5.26, *б*) на структурах функционального блока взаимодействуют (анаморфоза (5.22) при $n = 1{,}75 - 1{,}8$) как:

$$\ln\left[\left(\frac{ЭД_{50,\max} - ЭД_{50,к}}{ЭД_{50,i} - ЭД_{50,к}}\right)^{0,55} - 1\right] = \ln K_d - \ln d_i.$$

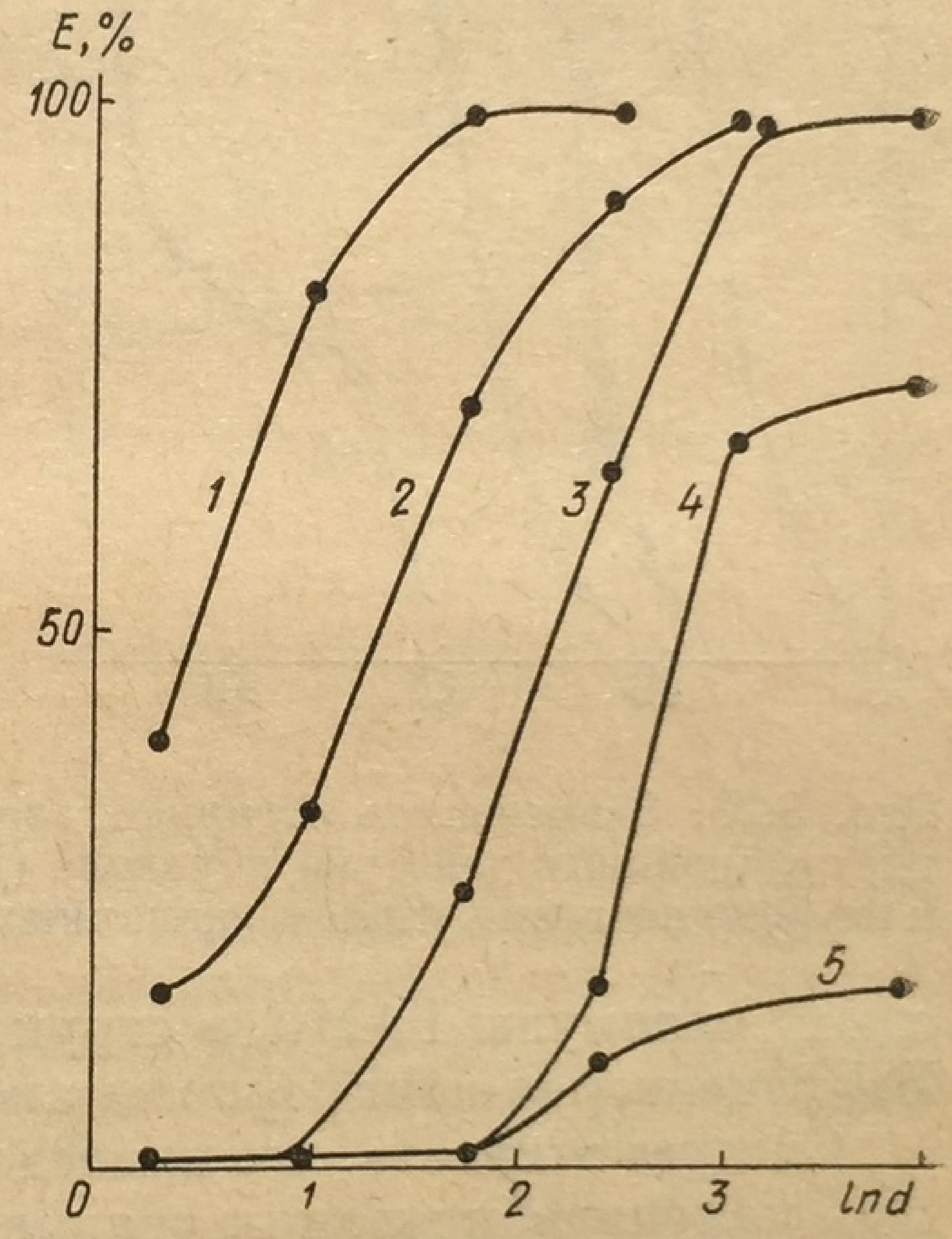


Рис. 5.27. Зависимость противосудорожного действия (% защиты от ТЭ) различных доз (*d*) 1,2,4,5-тетрагидрофеназепама в условиях инфузии 1%-ного раствора коразола в дозах: (мг/кг): *1* — 100; *2* — 130; *3* — 150; *4* — 220; *5* — 250

Из приведенных данных следует, что бикукуллин взаимодействует с обоими местами связывания в структуре указанного блока при формировании судорожного эффекта в условиях рецепции БД.

Аналогичная форма зависимости наблюдалась нами (см. рис. 5.1) при введении мышам тиосемикарбазида. Зависимость доза — эффект в контрольной группе животных линейна, что является следствием гиперболического (обусловленного конкурентным типом взаимодействия) взаимоотношения вводимой дозы тиосемикарбазида и вероят-

ности развития судорожных показателей при дисперсии данных, пропорциональной показателю.

В условиях введения животным барбитурата и БД $ЭД_{50}$ тиосемикарбазида возрастают:

$$\ln\left[\left(\frac{ЭД_{50,\max}-ЭД_{50,к}}{ЭД_{50,i}-ЭД_{50,к}}\right)^{0,5}-1\right]=\ln K_d-\ln d_i, \qquad (5.23)$$

что предполагает модификацию проводимости хлорного канала в условиях влияния БД и барбитурата при рецепции не только двух, но и

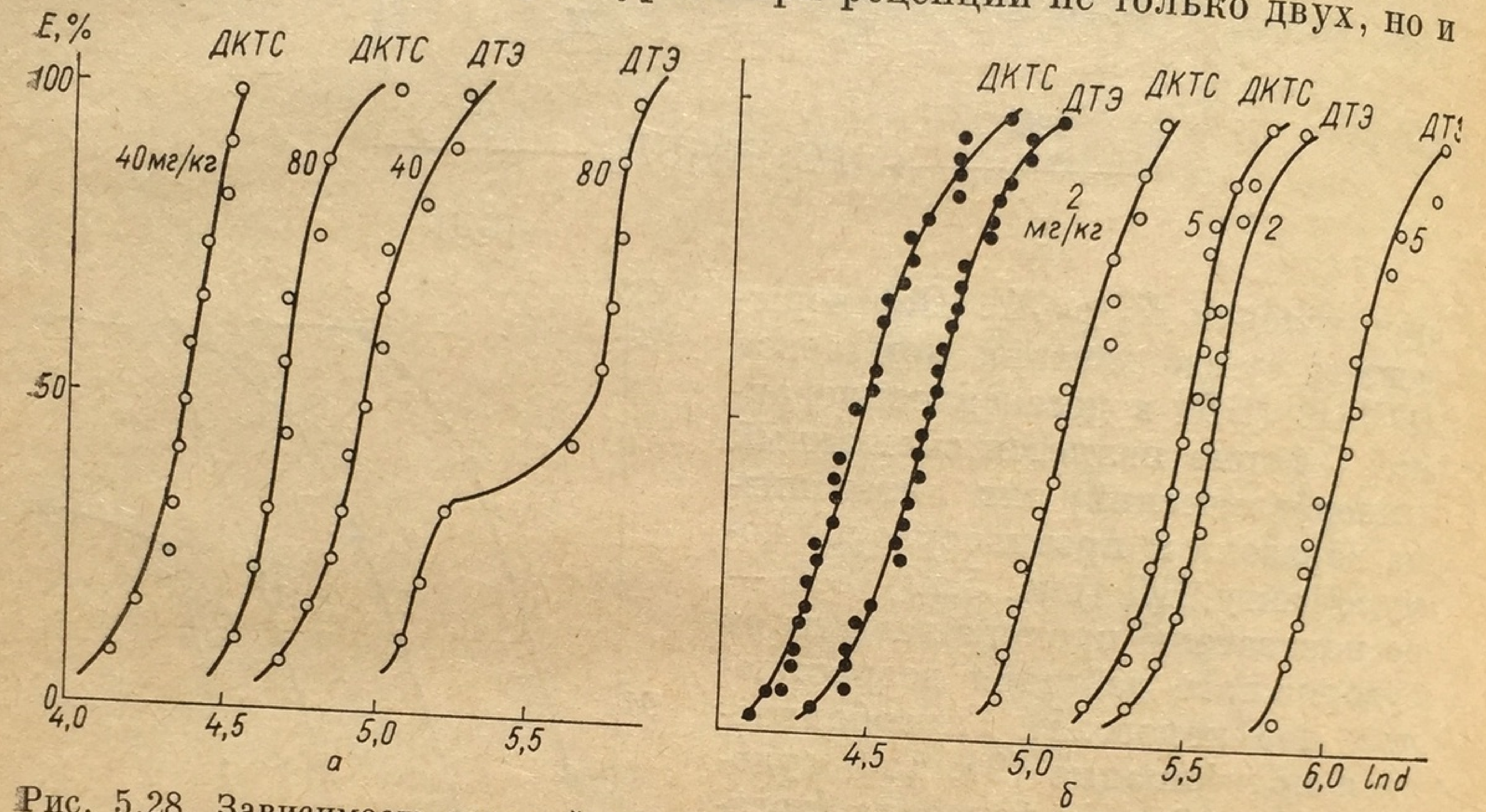


Рис. 5.28. Зависимость логарифм вводимой дозы — эффект (накопленные частоты) судорожного действия коразола (ДКТС и ДТЭ) в контрольном эксперименте и на фоне введения мышам различных доз (d) мединала (*а*) и феназепама (*б*)

одной молекулы ГАМК в структуре функционального блока ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля.

Следует отметить, что приведенные в работе [30] величины постоянных полуингибирования связывания ^{3}H-диазепама и БДР для ряда производных БД и значения повышения связывания ^{3}H-ГАМК в аналогичных условиях (при логарифмическом выражении обеих величин) линейно взаимосвязаны (с коэффициентом регрессии, равным 2). Это предполагает квадратическую зависимость указанных величин.

Количественные различия в действии БД и барбитуратов состоят в существенно более высоком (десятикратном) значении $ЭД_{50,\max}$ у последних, что согласуется с более выраженной модификацией проводимости хлорного канала, обнаруженной ранее (см. рис. 5.9, *б*) [14] и состоящей в увеличении времени пребывания канала в открытом состоянии. Авторы указанной работы на основании кинетики десенситизации ГАМК-рецепторов, при отсутствии и присутствии фенобарбитала в среде делают предположение о снижении величин постоянных скорости процесса. Это согласуется с нашими представлениями о направлении сдвига равновесия конформационных состояний (стабилизация А-формы ГАМК-рецептора), модифицируемых барбитуратами.

Число работ по изучению функции и механизма действия барбитуратов [46, 55, 110, 115, 116] и их антагонистов [16, 164] значительно уступает количеству исследований собственно БДР, в которых параллельно [165] или подчиненно основным целям работы представлены регистрируемые показатели в условиях воздействия барбитуратов [12, 14, 18, 26, 48, 79, 164]. Исследован механизм влияния барбитуратов [14, 48, 110] и их антагониста пикротоксина [22, 164] на хлорную проводимость, связывание с ГАМК и БД [46, 51, 79, 165] или показатели фармакологического эффекта [15, 22, 59, 71, 106,

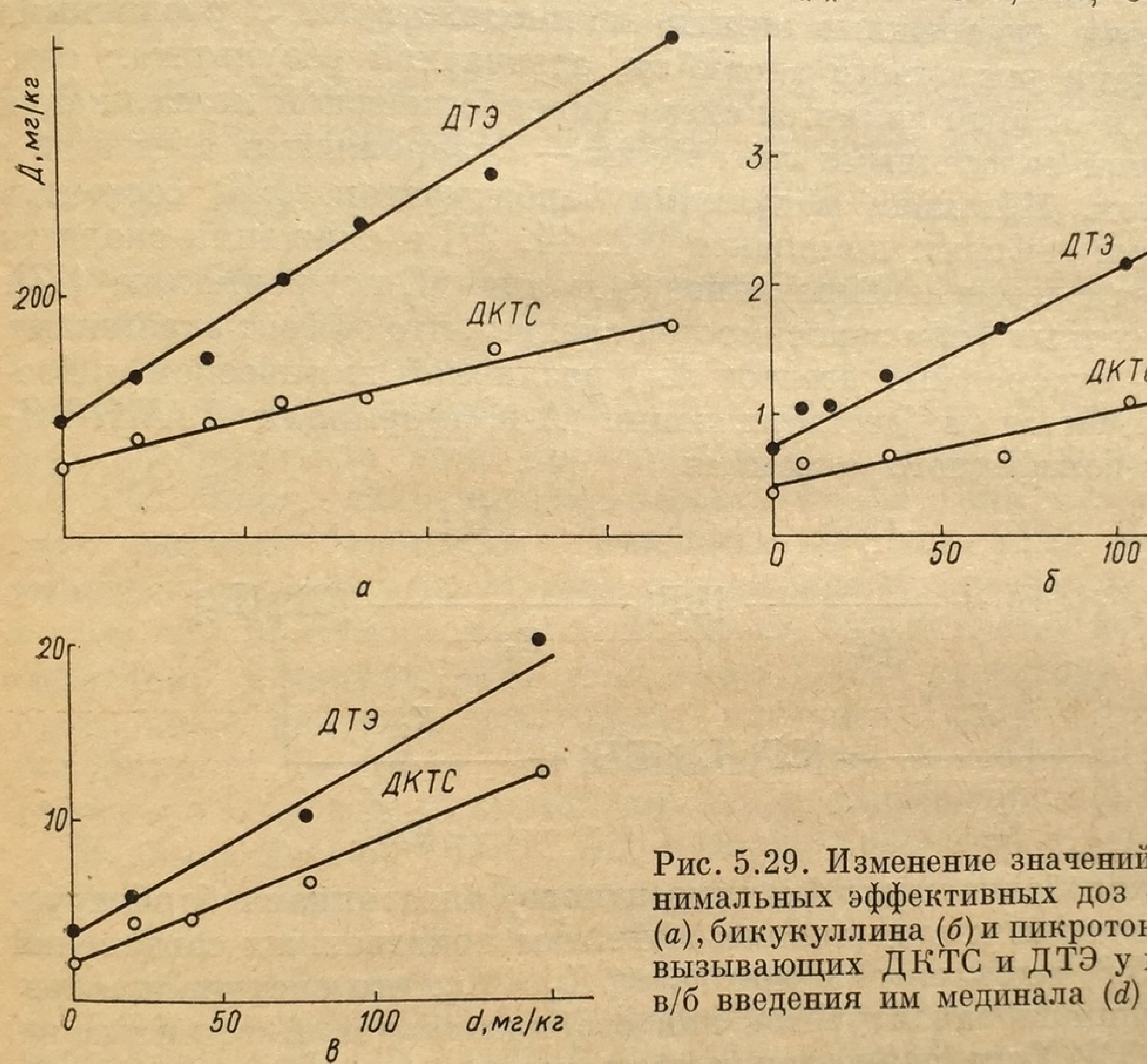


Рис. 5.29. Изменение значений величин минимальных эффективных доз (Д) коразола (*а*), бикукуллина (*б*) и пикротоксина ($\times 10$, *в*), вызывающих ДКТС и ДТЭ у мышей после в/б введения им мединала (*d*)

115, 116, 118, 166]. В большинстве фармакологических исследований быстрообратимые (судорожные) эффекты (для оценки противосудорожного действия лигандов ГАМК-рецептора) создают введением антагонистов барбитуратов — пикротоксина [6, 15, 18, 59, 71, 104, 114, 120] и, особенно широко, коразола [3, 13, 19, 52, 59, 71, 81—91, 107, 119]. Пикротоксин также используют в качестве антагониста барбитуратов в опытах in vitro [4, 16, 18, 73, 69]. Однако сведения об особенностях механизмов действия указанных соединений крайне скудны и противоречивы.

Предполагается, что коразол, в отличие от пикротоксина [16], рецептируется с наружной стороны нейрональных мембран [13]. В других работах отмечено, что коразол снижает (конкурентно?) связывание ^{3}H-дигидропикротоксина с молекулами ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля [19, 167]. Указывается на идентичность мест связывания барбитуратов, пикротоксина и коразола [9, 19, 91],

а также процессов модификации хлорной проводимости нейронов, вызываемой коразолом и пикротоксином в опытах in vitro [19, 168].

Как указывалось выше, форма взаимодействия фармакологических эффектов модуляторов ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля определяется различиями в направленности сдвигов состояния равновесия конформеров (А, В, С) ГАМК-рецептора, а не конкретным местом рецепции. Это согласуется с обнаруженным конкурентным взаимоотношением коразола и барбитала натрия в проявлении фармакологической активности (рис. 5.29, *а*). Ввиду того, что барбитурат и исследуемые судорожные агенты взаимодействуют с различными субъединицами указанного ансамбля, адекватной результатам опытов in vivo и in vitro является схема гиперболической модификации его состояний экзогенными лигандами — судорожными агентами и барбитуратом. Механизм модуляции барбитуратом (ББ) состоит в стабилизации А-формы комплекса [12, 14, 27] и снижении скорости его перехода в десенситизированное состояние (С-конформацию) [73]. Из обнаруженных форм зависимостей следует, что эффект экзогенных лигандов — судорожных агентов (L_c) различной химической природы — заключается в дестабилизации А-конформации ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля

$$[\text{АГ}]\,[\text{ББ}] \xleftarrow[K_3]{[\text{ББ}]} [\text{ВГ}] \xrightarrow[K_4]{[L_c]} [\text{СГ}]\,[L_c]$$

$$[\text{АГ}]\,[\text{ББ}] \xrightarrow[{[L_c]}]{K_1} [\text{СГ}]\,[L_c]\,[\text{ББ}] \xleftarrow[{[\text{ББ}]}]{K_2} [\text{СГ}]\,[L_c]$$

Условия гиперболического (конкурентного) антагонизма барбитуратов по отношению к судорожным эффектам приведенных соединений (см. табл. 5.9) выполняются при $K_1 \ll K_3$ и K_4, что следует из определения функции барбитуратов как стабилизаторов А-формы комплекса [14, 73]. Характерно также сохранение формы (наклона) кривых логарифм эффективных доз коразола — эффект (накопление частоты) на фоне введения возрастающих доз барбитала (см. рис. 5.28).

Пикротоксин — классический конкурентный антагонист барбитуратов [4, 16, 22, 164]. Он ингибирует индуцируемый ГАМК хлорный ток через нейрональную мембрану [16]. Величина $ЭД_{50}$ индуцированного тока сохраняет свое значение (при снижении величины максимальной проводимости) в присутствии пикротоксина в среде. В данном случае его эффект должен характеризоваться (формально) как частный случай неконкурентного антагонизма (при условии одинакового сродства пикротоксина к функциональным блокам ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля в отсутствие ГАМК и при их модификации двумя молекулами ГАМК, что следует из рис. 5.29) по отношению к фармакологическому действию последней. В опытах in vitro убедительно продемонстрировано, что пикротоксин уменьшает количество мест связывания ^{3}H-флюнитразепама, не влияя на

сродство последнего к ГАМК-БД-рецепторно-ионофорному ансамблю [164].

В наших исследованиях показано (рис. 5.30, *б*), что судорожное действие пикротоксина конкурентно устраняется введением барбитала (см. соответствующее уравнение и схему, приведенную для описания эффектов коразола). Не обнаружено значительных количественных отличий результатов данного эксперимента от предыдущего при анализе коэффициентов ингибирования. Для форм зависимостей, показанных на рис. 5.29, значение коэффициента регрессии $\frac{ЭД_{50,max} - ЭД_{50,к}}{K_d}$ формально совпадает со значением индекса ингибирования, определенного не для двух экспериментальных точек, а в пределах анализируемого цифрового массива, нормированное относительно величин $ЭД_{50,к}$: $\frac{ЭД_{50,max} - ЭД_{50,к}}{ЭД_{50,к}\, K_d}$ позволяет осуществить сравнительный анализ. Для судорожного действия пикротоксина эти величины составляют по ДТЭ 0,013, ДКТС — 0,0127, а для судорожного действия коразола — 0,025 и 0,017. Указанные значения, определенные для судорожного эффекта бикукуллина на фоне возрастающих доз барбитала, ниже приведенных ($P < 0{,}01$) и составляют 0,006 и 0,0045. Форма зависимости возрастания $ЭД_{50}$ бикукуллина в условиях введения барбитала — линейная (см. рис. 5.29). Приведенные экспериментальные результаты подтверждают литературные данные о том, что противосудорожный эффект барбитуратов состоит в стабилизации А-конформации комплекса ГАМК-рецептора с ГАМК, а судорожное действие экзогенных лигандов ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля — в дестабилизации А-конформации ГАМК-рецептора (коразол, пикротоксин) или ее модификации (бикукуллин).

Взаимодействие ГАМК, БД и барбитуратов на структурах указанного ансамбля привлекает пристальное внимание исследователей [7, 9, 12, 20, 23, 25, 27, 28, 34, 60, 115, 116]. Значительное количество молекулярно-биологических работ посвящено вопросам взаимного влияния этих соединений на параметры их связывания с рецепторами [35, 59, 92, 110, 114—116]. Отмечается повышение сродства, а также количества мест связывания [7, 59, 60, 92] приведенных лигандов ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля при совместном действии. В то же время обращается внимание на то, что соединения, обладающие судорожной активностью, снижают сродство или уменьшают количество мест связывания ГАМК, БД и барбитуратов с супрамолекулярными ансамблями [34, 60, 67, 164]. Приведенные факты в общих чертах отражают закономерности изменений конформационного равновесия указанного ансамбля в условиях влияния экзогенных лигандов (табл. 5.7 и 5.8). Представленная выше типизация функций модуляторов ГАМК-рецептора (табл. 5.8) позволяет конкретизировать указанные тенденции.

В фармакологии кроме факта физиологического антагонизма ГАМК, барбитуратов и БД с судорожным эффектом лигандов, снижающих их сродство к рецептору, отмечено «потенцирование» противосудорожных, снотворных и других эффектов в группе соединений-

антиконвульсантов при их совместном введении [23, 25, 27, 47, 70]. Потенцирование действия (снотворного эффекта) барбитуратов используется в современном фармакологическом скрининге для сравнительной оценки активности транквилизаторов [70, 79]. Термин «потенцирование» является довольно неоднозначным [56, 72, 169]. В литературе [70, 79] он часто не дифференцируется с понятием суммации эффектов. Формальный аппарат, описывающий обсуждаемые феномены [56, 169], представляет частный случай подходов, обычно используемых при анализе процессов ингибирования-активации в фермента-

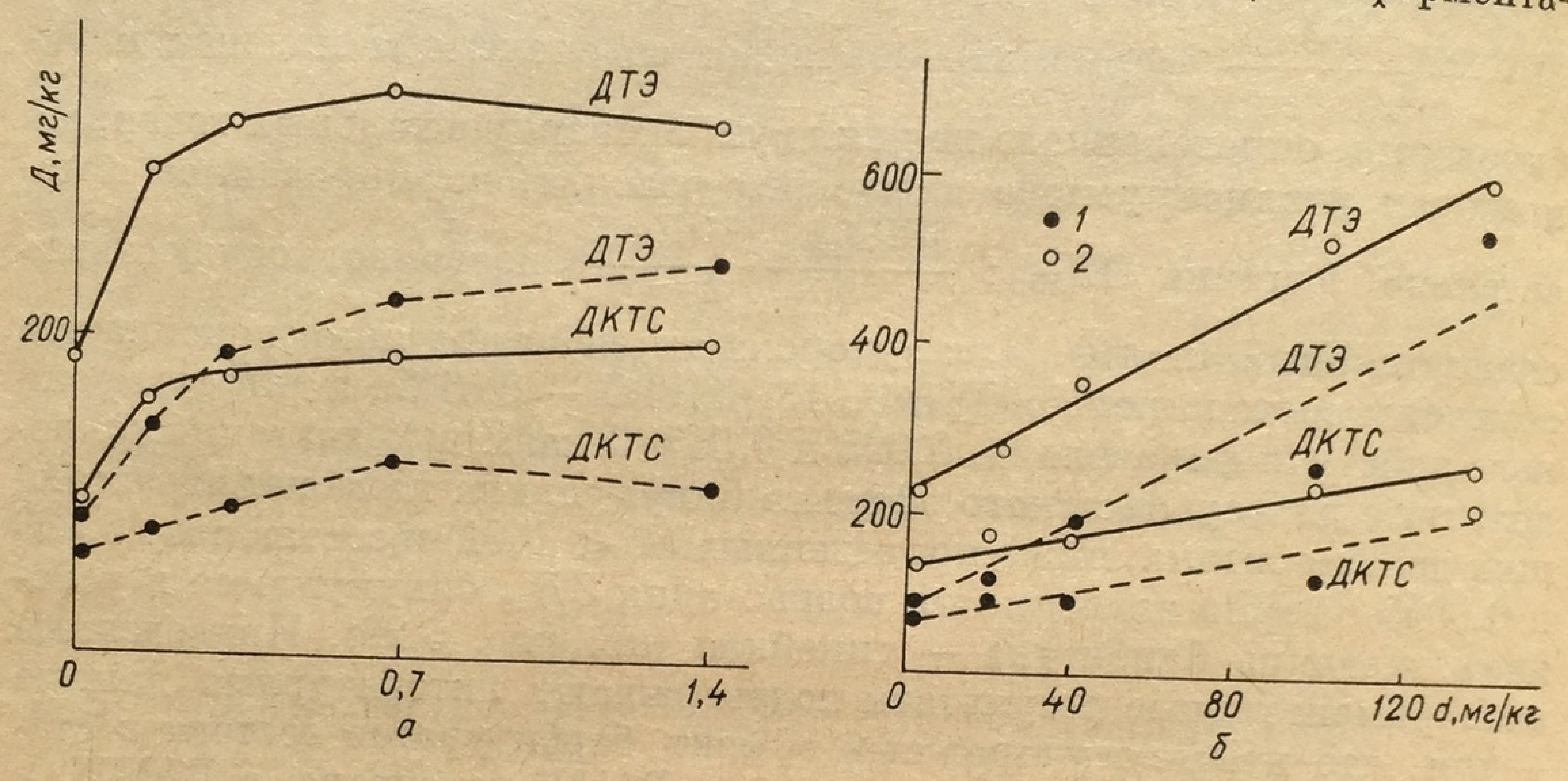


Рис. 5.30. Изменение значений величин минимальных эффективных доз коразола, вызывающих ДКТС и ДТЭ у мышей при введении им феназепама и мединала:

а — введение феназепама в дозах 0,17—1,4 мг/кг (*1*) и совместное введение возрастающих доз феназепама (0,17—1,4 мг/кг) и мединала в дозе 40 мг/кг (*2*); *б* — введение мединала в дозах 20—120 мг/кг (*1*) и совместное введение возрастающих доз мединала (20 — 120 мг/кг) и феназапама в дозе 1,4 мг/кг (*2*)

тивной кинетике [94, 159] и в экспериментальных фармакологических исследованиях практически не используется. Поэтому констатация фактов возрастания эффектов при совместном введении препаратов недостаточна для анализа особенностей взаимодействия агонистов в формировании фармакологического ответа. Для корректной оценки исследуемых феноменов нами использованы вариант дисперсионного анализа, предложенный Н. А. Плохинским [99],— метод, позволяющий статистически обоснованно судить о параллельности — непараллельности и различиях в уровнях протекания процессов (см. табл. 5.8), а также регрессионный анализ взвешенных величин (метод наименьших квадратов неравноточных измерений) опытных данных.

Для оценки характера взаимодействия противосудорожных агентов БД и барбитуратов использовали следующую схему опыта: осуществляли анализ распределения минимальных эффективных доз коразола, бикукуллина и пикротоксина в группах интактных животных при введении возрастающих доз (кривые доза — эффект) БД (феназепама) и барбитурата (барбитала натрия). Аналогичные кривые на фоне введения фиксированных доз агониста: при ис-

следовании зависимости доза — эффект барбитала — 0,7 мг/кг феназепама и феназепама на фоне введения 40 мг/кг барбитала натрия.

Как видно из опытных данных (табл. 5.9—5.13, рис. 5.30), в результате раздельного введения обоих агонистов наблюдалось развитие достоверного фармакологического эффекта. Формы зависимостей доза — эффект при введении феназепама и барбитала натрия аналогичны наблюдавшимся ранее (см. рис. 5.22, 5.29). Совместное введение феназепама и барбитала повышает фармакологический эффект во всех вариантах опытной схемы.

Более детальный анализ опытных данных (табл. 5.9) показал, что при совместном введении заданной дозы ($Д_j$) барбитала и возрастающих доз БД (рис. 5.30) обнаруживается изменение формы зависимости, состоящее в снижении величины K_d по обоим регистрируемым показателям:

$$ЭД_{50,i,j} = ЭД_{50,j} + (ЭД_{50,\max} - ЭД_{50,к}) \times$$
$$\times \{d_i + [K_d (1 + aД_j)(1 + bД_j)^{-1} + d_i]^{-1}\}, \qquad (5.24)$$

Таблица 5.9. **Параметры регрессионного и дисперсионного анализов * изменения минимальных эффективных доз (ДКТС и ДТЭ) коразола при введении мышам: I — феназепама отдельно (0,17—1,4 мг/кг) (А) и совместно с мединалом (40 мг/кг) (Б); II — мединала отдельно (20—120 мг/кг) (А) и на фоне феназепама (0,7 мг/кг) (Б)**

Условия опыта	Параметр	А		Б	
		ДКТС	ДТЭ	ДКТС	ДТЭ
	Регрессионный анализ				
I	$a = (Д_{\max} - Д_к)^{-1}$	0,011	0,0047	0,009	0,006
	$b = d_{50} (Д_{\max} - Д_к)^{-1}$	0,0074	0,0019	0,0019	0,0002
	$Д_{\max} - Д_к$	94,03	212,20	111,10	161,70
	d_{50}	0,67	0,40	0,11	0,040
	Дисперсионный анализ (ДТЭ) (итоговая запись)				
	F_1	39,09	$F_т$**	12,7; 7,3; 4,1	
	ν***	1	ν	42	
	F_2	0,75	$F_т$	5,7; 3,8; 2,6	
	ν	4	ν	42	
	Регрессионный анализ				
II	a	56,98	72,65	137,58	217,33
	b	0,89	2,47	1,09	3,20
	Дисперсионный анализ ДТЭ (итоговая запись)				
	F_1	10,33	$F_т$	12,9; 7,3; 4,1	
	ν_1	1	ν	38	
	F_2	0,2	$F_т$	13,9; 5,8; 2,6	
	ν_1	4	ν	38	

* Сравнение среднего уровня (F_1) и непараллельности (F_2) процессов.
** Стандартные значения критерия Фишера.
*** Число степеней свободы.

Таблица 5.10. **Влияние величин минимальных эффективных доз бикукуллина, вызывающих ДКТС и ДТЭ при в/б введении мышам мединала (10—200 мг/кг, $t = 60$ мин) (А) и на фоне введения феназепама (0,7 мг/кг, $t = 2$) (Б) ($M \pm m$, $n = 4$—8)**

Доза, мг/кг	А		Б	
	ДКТС	ДТЭ	ДКТС	ДТЭ
0	0,66±0,05	1,06±0,08	1,49±0,16	2,68±0,25
10	1,01±0,06	1,44±0,05	—	—
20	0,89±0,09	1,37±0,12	1,33±0,23	2,39±0,05
40	1,08±0,07	1,65±0,10	1,88±0,24	3,08±0,17
80	1,0±0,08	1,89±0,21	1,94±0,14	
125	1,2±0,08	2,38±0,15	—	—
160	1,29±0,11	2,64±0,18	1,99±0,29	3,80±1,04
200	1,76±0,12	3,27±0,18	—	—

Таблица 5.11. **Изменение величин минимальных эффективных доз бикукуллина, вызывающих ДКТС и ДТЭ при в/б введении феназепама (0,35—2,8 мг/кг, $t = 2$ ч) (А) на фоне введения мединала (40 мг/кг, $t = 60$ мин) (Б)**

Доза, мг/кг	А		Б	
	ДКТС	ДТЭ	ДКТС	ДТЭ
0	0,70±0,06	1,10±0,08	1,01±0,69	1,65±0,99
0,35	1,29±0,09	1,86±0,19	2,06±0,26	3,15±0,45
0,70	1,35±0,16	2,16±0,12	1,88±0,23	3,08±0,17
1,4	1,48±0,23	2,24±0,24	1,82±0,25	2,62±0,21
2,8	1,52±0,14	2,47±0,18	1,68±0,11	2,87±0,35

Таблица 5.12. **Изменение величин минимальных эффективных доз (мг/кг·10) пикротоксина, вызывающих ДКТС и ДТЭ у мышей при введении им мединала (20—160 мг/кг, $t = 60$ мин) (А) и на фоне введения феназепама (0,7 мг/кг, $t = 2$ ч) (Б). Параметры регрессионного анализа данных величин ($M \pm m$, $n = 4$)**

Доза, мг/кг	А		Б	
	ДКТС	ДТЭ	ДКТС	ДТЭ
0	4,72±0,55	6,40±0,52	7,52±0,48	12,1±1,09
20	6,58±0,09	8,11±0,29	11,36±0,51	15,82±0,79
40	6,71±0,48	8,45±0,69	12,07±0,22	17,95±0,12
80	8,42±0,69	12,11±2,00	16,25±0,85	23,30±4,80
160	13,87±1,13	20,20±1,34	—	—
	Параметры регрессии			
a	5,58	7,05	8,08	
b	0,048	0,052	0,103	

где a и b — постоянные, $b > a > 0$. Потенцирование противосудорожного эффекта заданной дозы ($d_i = 0{,}7$ мг/кг) БД возрастающими дозами барбитурата заключалось в ограниченном изменении значения ЭД$_{50,i,j}$: от ЭД$_{50,i}$ (при Д$_j = 0$) до ЭД$_{50,j}$ + (ЭД$_{50,max}$ − ЭД$_{50,к}$) $\times [d_i (K_d ab^{-1} + d_i)^{-1}]$ (при больших (Д$_j \gg 1$) значениях вводимых доз барбитурата). Максимальное из-за низких значений K_d потенцирование противосудорожного эффекта БД ($[d_i (K_d ab^{-1} + d_i)^{-1}] \approx 1$) наблюдалось во всем исследованном интервале доз барбитурата по показателям ДКТС и ДТЭ бикукуллина и коразола. Эффект при данных условиях проявляется параллельным исходной серии ($P < 0{,}05$) превышением ($P < 0{,}01$) значений регистрируемых показателей на величину (ЭД$_{50,max}$ − ЭД$_{50,к}$). Более высокие значения K_d по показателям ДКТС и ДТЭ пикротоксина определяют (в интервале исследованных доз барбитурата) возрастание наблюдавшегося эффекта до указанной максимальной величины. Характерной чертой приведенных опытных серий (см. табл. 5.11, 5.13, рис. 5.30) является отсутствие существенных изменений в значениях (ЭД$_{50,max}$ − ЭД$_{50,к}$). Наблюдающаяся форма гиперболического «конкурентного» потенцирования противосудорожного действия БД барбитуратом предполагает следующую схему взаимодействия противосудорожных соединений на структурах ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля:

$$[\text{АГ}]\,[\text{БД}] \xleftarrow[{'K_3}]{[\text{БД}]} [\text{ВГ}] \xrightarrow[{'K_4}]{[\text{ББ}]} [\text{АГ}]\,[\text{ББ}]$$

$$[\text{АГ}]\,[\text{БД}] \xrightarrow[{[\text{ББ}]}]{'K_1} [\text{АГ}]\,[\text{БД}]\,[\text{ББ}] \xleftarrow[{[\text{БД}]}]{'K_2} [\text{АГ}]\,[\text{ББ}]$$

где $'K_1$ — $'K_4$ — величины, пропорциональные постоянным равновесия процессов взаимодействия лигандов ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля, при условии $'K_1 > 'K_4$; $'K_1\,'K_4^{-1} = ba^{-1}$ (из уравнения (24)). Предложенная схема подтверждается повышением сродства БД к ГАМК-БД-рецепторно-ионофорному ансамблю в условиях его модуляции барбитуратами. Аналогичные данные — повышение сродства ГАМК к ГАМК-рецептору, модулируемые БД, а также БД к БДР в среде ГАМК, полученные в молекулярно-биологических исследованиях, обнаруживают единый механизм модуляции указанного ансамбля противосудорожными соединениями, состоящий во взаимном гиперболическом «конкурентном» потенцировании процессов конформационных взаимопревращений ансамбля с различной проводимостью хлорного ионофора.

Наиболее интересные и несколько неожиданные (при сопоставлении с литературными данными) результаты получены нами при исследовании влияния мусцимола на формакологические эффекты тиосемикарбазида, бикукуллина и коразола, а также на выраженность противосудорожного действия феназепама и барбитала натрия на фоне внутривенной инфузии бикукуллина и коразола.

Мусцимол (агонист ГАМК) широко используется в молекулярно-биологических исследованиях. Его присутствие в средах усиливает

11 7–2934

поступление ионов хлора в срезы мозга [9, 12, 26, 48, 68], повышает анионный ток через мембрианы [4, 15, 31, 68], вызывает ГАМК-миметические эффекты препаратов подвздошной кишки морских свинок [18], повышает степень связывания барбитуратов и БД ГАМК-рецепторным комплексом [9, 48]. Сродство мусцимола к ГАМК-рецептору превышает сродство ГАМК в 9—10 раз [68]. С другой стороны, мусцимол проникает через гематоэнцефалический барьер [3, 25, 59, 105, 120], что делает его удобным объектом для фармакологических изысканий на целостном организме. Однако опытные данные, полученные in vivo, оказались достаточно противоречивыми.

В работе [105] мусцимол использовали как судорожный агент (вызывающий миоклонические подергивания) для оценки фармакологической активности ряда производных БД. Введение животным БД в различной степени устраняло фармакологический эффект мусцимола. Данные по противосудорожному действию (максимальный электрошок, судорожные показатели, вызываемые введением коразола и мусцимола) сопоставимы со значениями постоянных полуингибирования связывания ^{3}H-диазепама и флюнитразепама. В работе [59] мусцимол использовали как соединение, повышающее снотворный эффект барбитуратов. В монографии [25] мусцимол многократно упоминается как ГАМК-миметик (без привлечения убедительных данных, кроме ссылок на опыты in vitro) и одновременно подчеркивается развитие судорожных состояний при его введении.

В работе [25] отмечено, что мусцимол оказывает существенный противосудорожный эффект на фоне введения 3-меркаптопропионовой кислоты и незначительно защищает животных от судорог, вызываемых коразолом и бикукуллином. 3-меркаптопропионовая кислота является соединением, аналогично тиосемикарбазиду действующим на обмен ГАМК. Ее эффекты обусловлены снижением уровня ГАМК в головном мозгу. Эта кислота используется как судорожный агент в исследованиях фармакологической активности агонистов ГАМК [103], БД и барбитуратов [71]. Наиболее прямой способ определения ГАМК-миметических свойств (в данном случае мусцимола) состоит в оценке фармакологической активности агониста в условиях введения антиметаболита, вызывающего прогрессивный дефицит медиатора.

Нами проведено исследование влияния мусцимола на развитие показателей судорожного припадка у мышей в условиях введения тиосемикарбазида (антиметаболит ГАМК), коразола и бикукуллина (антагонист ГАМК). Мусцимол вводили в/б в дозах 3 и 6 мг/кг. В исследовании [105] дозы мусцимола 3 мг/кг использовали для исследования противосудорожной (миоклонические подергивания) активности БД, в работе [59] 3 и 6 мг/кг мусцимола вводили для определения эффекта потенцирования снотворного действия фенобарбитала. Мусцимол в дозах 3 и 6 мг/кг у мышей вызывал явления миорелаксации, миоклонические подергивания; при дозе 6 мг/кг развивался значительный токсический эффект, приводящий к гибели (в течение 3 ч опыта) около 25 % животных. В связи с последним основное исследование осуществлено при введении мышам соединения в дозе 3 мг/кг. В указанных условиях наблюдаемые эффекты развивались через 5—10 мин, зна-

чительная миорелаксация животных сохранялась в течение 3 ч после введения мусцимола.

Введение мышам тиосемикарбазида (табл. 5.13) вызывало развитие клонических судорог (КТС) и тоническую экстензию (ТЭ) в контрольных и опытных группах животных. Распределение вероятности развития (Р) соответствующих показателей судорожного припадка у интактных мышей и на фоне предварительного введения мусцимола

Таблица 5.13. **Изменение величин минимальных эффективных доз коразола и бикукуллина (ДКТС и ДТЭ) и вероятности развития судорожного эффекта тиосемикарбазида ($P_{КТС}$ и $P_{ТЭ}$) при их введении с мусцимолом ($M \pm m$, $n = 6-12$)**

Соединение	ДКТС	ДТЭ	Соединение	$P_{КТС}$	$P_{ТЭ}$
Коразол	46,02±3,93	73,50±6,88	Тиосемикарбазид в дозе, мг/кг		
Коразол + мусцимол в дозе 6 мг/кг	55,42±7,72	88,17±11,35	10	0	0
			12	0,67	0,17
Коразол + мусцимол в дозе 3 мг/кг	68,17±5,21	103,17±3,25			
Бикукуллин	0,70±0,03	1,0±0,034	14	0,83	0,33
			16	0,83	0,50
Бикукуллин + мусцимол в дозе 3 мг/кг	0,78±0,075	0,97±0,053	18	1,0	0,83
			20	1,0	0,83
			25	1,0	1,0
			Мусцимол в дозе 3 мг/кг + + тиосемикарбазид в дозе, мг/кг		
			10	0	0
			12	0,67	0,17
			14	0,67	0,17
			16	0,83	0,17
			18	1,0	0,17
			25	1,0	1,0

относительно возрастающих доз тиосемикарбазида не показало достоверной ГАМК-мимической активности соединения по показателю КТС. $ЭД_{50}$ тиосемикарбазида по ТЭ на фоне введения мусцимола возросла на 37 % (относительно контрольной величины). Не обнаружено также достоверных противосудорожных эффектов мусцимола на фоне в/в инфузии бикукуллина по обоим регистрируемым показателям (ДТЭ и ДКТС). Достоверное ($P \leqslant 0,05$) противосудорожное действие мусцимола зарегистрировано только в условиях внутривенной инфузии коразола (мусцимол 3 мг/кг). После введения мусцимола в дозе 6 мг/кг противосудорожный эффект (по обоим регистрируемым показателям) не наблюдался (см. табл. 5.13). Предположение об отсутствии выраженности ГАМК-мимических противосудорожных свойств мусцимола в опытах in vivo, в отличие от ГАМК и ее агонистов [6, 45,

103, 104], не является окончательным, так как в работе [59] приведены данные о потенцировании снотворных эффектов барбитуратов. Для уточнения приведенного предположения нами изучено влияние мусцимола на формирование противосудорожного действия барбитала натрия и феназепама в условиях внутривенной инфузии коразола и бикукуллина (табл. 5.14, 5.16). Фармакологические эффекты БД реа-

Таблица 5.14. **Изменение величин минимальных эффективных доз коразола, вызывающих ДКТС и ДТЭ у мышей при введении им мединала (t = 60 мин) (А) и совместном введении мединала и мусцимола в дозе 3 мг/кг (Б)**

Доза, мг/кг	А		Б	
	ДКТС	ДТЭ	ДКТС	ДТЭ
0	50,90±3,70	71,25±7,94	68,17±5,21	103,17±3,25
40	87,70±4,20	149,07±7,79	42,37±9,86	124,87±13,30
80	114,11±6,86	265,82±24,04	116,96±25,27	254,79±39,40
160	184,38±9,68	449,60±16,98	162,86±26,02	474,30±52,05

Таблица 5.15. **Изменение величин минимальных эффективных доз бикукуллина, вызывающих ДКТС и ДТЭ у мышей при в/б введении мединала (t = 60 мин) (А) и совместного введения мединала и мусцимола в дозе 3 мг/кг (Б)**

Доза, мг/кг	А		Б	
	ДКТС	ДТЭ	ДКТС	ДТЭ
0	0,70±0,03	1,0±0,04	0,078±0,07	0,97±0,05
6,25	0,78±0,07	1,10±0,06	—	—
12,5	0,74±0,06	1,06±0,08	—	—
25,0	1,05±0,04	1,36±0,04	—	—
40,0	1,23±0,02	1,64±0,06	0,94±0,04	1,37±0,07
50,0	1,30±0,07	1,77±0,07	—	—
100,0	1,27±0,09	1,86±0,11	0,96±0,09	1,20±0,07
150,0	1,44±0,12	2,20±0,17	1,60±0,09	2,15±0,22
200,0	1,52±0,06	2,59±0,08	—	—
300,0	1,95±0,10	3,58±0,15	—	—

лизуются только в присутствии ГАМК как in vitro, так и in vivo, барбитураты в высоких концентрациях проявляют слабые (менее 10 % от исходных [14]) ГАМК-миметические эффекты [14, 48], потенцируемые ГАМК. В связи со сказанным можно предполагать потенцирование мусцимолом фармакологического действия БД и барбитуратов. Однако полученные в опытах данные (табл. 5.14—5.16) демонстрируют противоположную зависимость: противосудорожное действие обоих соединений (защита от судорог, вызванных инфузией коразола) не изменялось или несколько снижалось при введении мусцимола. Фармакологическое действие мусцимола в условиях введения бикукуллина было более выраженным. Мусцимол практически

устранял противосудорожные эффекты феназепама и барбитала натрия по обоим показателям (ДКТС и ДТЭ) (табл. 5.15 и 5.16).

Факт потенцирования судорожного действия бикукуллина (антагониста ГАМК) мусцимолом является достаточно неожиданным и не имеет аналогов в литературе. В связи с этим фармакологическое действие мусцимола в физиологических условиях следует охарактеризовать как частичный антагонизм функции ГАМК в организме. В узком смысле антагонизм мусцимола с ГАМК-зависимым и ГАМК-миметическим эффектами — потенцирование эффектов антагонистов ГАМК.

Таблица 5.16. **Изменение величин минимальных эффективных доз бикукуллина и коразола, вызывающих ДКТС и ДТЭ у мышей при в/б введении им феназепама (t = 60 мин) (А) и совместном введении феназепама и мусцимола в дозе 3 мг/кг (Б) ($M \pm m$, n = 6—12)**

Доза, мг/кг	А		Б	
	ДКТС	ДТЭ	ДКТС	ДТЭ
		Бикукуллин		
0	0,704±0,03	1,0±0,04	0,78±0,07	0,97±0,06
0,087	0,89±0,04	1,17±0,04	0,95±0,09	1,24±0,09
0,175	1,11±0,04	1,46±0,07	0,73±0,10	1,12±0,09
0,35	1,08±0,09	1,57±0,10	0,83±0,18	1,15±0,19
		Коразол		
0	50,14±2,40	71,25±7,94	68,17±5,21	103,17±3,25
0,087	76,96±4,71	111,98±5,97	85,04±10,13	122,31±12,80
0,175	85,09±3,64	131,91±2,66	96,08±8,32	131,30±12,54
0,35	91,06±9,02	168,22±22,33	102,66±10,28	178,64±34,48

Зная, что сродство мусцимола к ГАМК-рецептору значительно выше, чем ГАМК, можно предположить, что в условиях опыта значительная часть ГАМК вытеснена с рецепторов (замещена мусцимолом) и в данном случае мы оперируем с экспериментальной моделью, в которой входные величины (барбитурат, БД, коразол, бикукуллин) воздействуют на новую систему, включающую комплексы (ГАМК-рецептор — мусцимол). Свойства предполагаемых экспериментальных моделей практически не изучены, и при интерпретации опытных данных можно рассмотреть несколько предварительных предположений.

1. Вероятность нахождения комплекса ГАМК-рецептор — мусцимол (А-конформация) в активированной форме (открытый хлорный канал) несколько ниже, чем для АГ.

2. При взаимодействии элементарного функционального блока ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля, модифицированного мусцимолом с БД и бикукуллином, структура, рецептировавшая одну молекулу мусцимола, бикуккулина и БД, имеет низкую вероятность активированного состояния, в отличие от структуры, рецептировавшей одну молекулу ГАМК, БД и бикукуллина, что определяет степенную форму кривых доза — эффект.

3. Рецепция барбитурата и БД в условиях влияния мусцимола не приводит к стабилизации А-конформации, а вызывает иной тип модификации комплекса.

Описанное в настоящем разделе исследование является несколько односторонним, поскольку в качестве экспериментальных моделей использованы различные варианты судорожных состояний, анализу подлежали судорожные эффекты в условиях введения антиконвульсантов. В современной экспериментальной фармакологии отсутствуют адекватные биологические модели, позволяющие осуществлять одномоментную оценку группы противоположных эффектов (снотворных, анксиолитических и миорелаксантных), а также их изменение в условиях введения конвульсантов (обратная задача). Последнее ограничивает не только объем и разнообразие подходов в получении информации о принципах функционирования ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля в физиологических условиях, но и предсказательную ценность уже полученной информации Однако соотнесение опытных и литературных данных, анализируемых в настоящей главе, с предложенной конформационно-равновесной моделью позволило выделить основные группы экзогенных лигандов, систематизировать их в соответствии с типами влияния на функциональное состояние ГАМК-рецептора и охарактеризовать принципы взаимодействия соединений на структурах рецепторно-канального ансамбля при формировании фармакологического ответа в физиологических условиях.

Эффекторный анализ обнаружил кооперативность некоторых типов взаимодействия лигандов ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля ($n = 1$ или 2, но не выше), гиперболическую или линейную формы зависимостей доза — эффект, концентрация — эффект, что сделало возможным (и необходимым) введение в аналитический аппарат данной области экспериментальной фармакологии новой сущности «элементарный функциональный блок ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля», функции которого описываются основным уравнением (22) настоящей главы.

Приведенные в главе конкретные примеры суммации, потенцирования фармакологического действия и изменения форм зависимостей доза — эффект при введении экзогенных лигандов отражают специфическую форму (в условиях динамического равновесия конформеров) функционирования элементарных блоков ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля.

Сказанное свидетельствует о возможности использования приведенных показателей (соответствующих данным молекулярно-биологических исследований и следующих из подходов эффекторного анализа, изложенного в настоящей главе), а также параметров фармакокинетики экзогенных лигандов в моделировании принципов функционирования ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля.

1. *Differential* pharmacolodical effekt of benzodiazepine receptor inverse agonists / E. N. Petersen, L. M. Jensen, T. Honore, C. Braestrup // Benzodiazepine recogn. Site ligands. Biochem. and pharmacol. 3rd Capo Boi conf. neurosci. (Villiasimius, June, 1983).— New York : S. n., 1983.— P. 57—64.
2. *Iadarola M. G., Gale K.* Cellular compartment of GABA in brain of and their

relationship to anticonvulsant astivity // Mol. and Cell. Biochem. — 1981.— 39, N 2.— P. 305—329.
3. *Pharmacolodical*, electrophysiological and neurochemical actions of the con-vulsant benzodiazepine Ro 5—4864 (4 — Chlordiazepam) / B. A. Weisman, J. Cott, D. Hommer et al. // Benzodiazepine recogn. Site ligands. biochem. and pharmacol. 3rd Capo Boi conf. neurosci. (Villasimius, June, 1983).—New York : S. n., 1983.— P. 139—151.
4. *Ong J., Keer D*. Potentiation of $GABA_A$-receptor mediated responses by barbiturates in the gunea-pig ileun // Eur. J. Pharmacol.— 1984.— 103, N 3/4.— P. 327—332.
5. *Young A. B., Zubin S. R., Snyder S. H*. Interaction of Benzodiazepines with central nervous glicine receptors : possible mechanism of action // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1974.— N 6.— P. 2246—2250.
6. *Beitz A. J., Larson A. A*. Inhibition of intrathecally administered picrotoxin- and bicucullineinduced convulsions in mice by pipecolic acid of GABA // Eur. J. Pharmacol.— 1985.— 114, N 2.— P. 181—187.
7. *Continuous* release of diazepan: elektrophysiological, biochemical and behavioral conseguences / D. W. Gallager, A. B. Malcolm, S. A. Anderson, S. P. Gonsalves // Brain Res.— 1985.— 342, N 1.— P. 26—36.
8. *Olsen R. W., Ticku M. K., Myller T*. Dihydroxinin binding to cray fischmuscle sires possibly related to γ-aminobutyric acid receptor-ionofores // Mol. Pharmacol.— 1978.— 14, N 3.— P. 381—390.
9. *Braestrup C., Nielsen M*. Benzodiazepine receptores // Hand. Psychopharmacol.— New York ; London : S. n., 1983.— Vol. 7.— P. 285—384.
10. *A molekular* mechanism for the action of benzodiazepines on GABAergic Transmission / A. Guidotti, M. Baraldi, J. P. Schwartz et al. // Neurotransmitters. Proc. Congr. pharmac. (Paris, 1978).— Oxford e. a., 1979.— P. 33—41.
11. *File S., Pellow S*. Intrinsik actions of the benzodiazepine receptor antagonist Ro 15—1788 // Psychopharmacology.— 1986.— 88, N 1.— P. 1—11.
12. *Purification* of the GABA (benzodiazepine) barbiturate receptor complex / R. W. Olsen, I. B. Fischer, R. G. King et al. // Neuropharmacology. — 1984.— 23, N 70.— P. 853—854.
13. *Pacheco M. F., Fowler J. C., Partidge L. D*. The site of action for the convulsant effect of pentylenetetrazol // Comp. Biochem. and Physiol. — 1981.— 68, N 1.— P. 99—102.
14. *Akaike N*. γ-Aminobutiric acid (GABA) activites three types of receptor-ionofore complex // J. Pharmacol. Soc. Jap.— 1985.— 105, N 10.— P. 926—936.
15. *Chan C. I., Farb D. H*. Modulation of neurotransmitter action control of γ-aminobutiric acid receptor through the benzodiazepine receptor // J. Neurosci.— 1985.— 6, N 9.— P. 2365—2373.
16. *Bicuculline* and picrotoxin bloc γ-aminobutiric acid — gated Cl^- conductance by different mechanisms / N. Akaike, K. Hattori, I. Omura, D. O. Carpenter // Experientia, 1985.— 41, N 1.— P. 70—71.
17. *Leix H., Srimathie M*. Diazepam receptors on mous astrocytes in primare cultures active concentrations of benzodiazepines or barbiturates // Can. J. Pharmacol. and Physiol.— 1980.— 58, N 2.— P. 217—220.
18. *Allan R. D., Dickenson H. W., Fong S*. Structive activity stidies the activity of a series of cyclopentane GABA analogues on GABA receptor and GABA uptake // Eur. J. of Pharmacol.— 1986.— 122, N 4.— P. 339—348.
19. *File E*. Behavioural effects of pentylentetrasole reversed by chlordiazepoxide and enchanced by Ro 15—1788 // Naunyn-Schmiedeberjs Arch. Pharmacol.— 1984.— 326, N 2.— P. 129—131.
20. *Müller W. E*. Mole kularer Wirkungsmechanisnus der benzodiazepine verstärkung endogener kontroll mechanismen für schaft angat muskeltonus und kramfpfaktivität // Münch. Med. Wochenscher.— 1982.— 124, N 41.— S. 879—884.
21. *Pellow S., File S. E*. Multiple sites of action for anxiogenic drugs: bechavioral, electrophisiological and biochemical correlation // Phsychopharmacol.— 1984.— 83, N 4.— P. 304—315.
22. *Are the toxicity* of pentobarbital and ethanol mediated by the GABA — benzodiazepine receptor chloride ionofor complex? / W. Mendelson, J. V. Martin, R. Wagner et al.// Eur. J. Pharmacol.— 1985.— 108, N 1.— P. 63—70.

23. *Pacheco-Leal D., Digna M. M. G., Hernandes-Mendoza A.* Drogas antiepilepticas. Mecanismo de accion molecular de convulsionantes y anticonvulsivos // Acta. med. Esc. supper. med. Inst. politech. nac.— 1982.— 18, N 71/72.— P. 17—27.
24. *Skolnic P., Paul S. M.* Benzodiazepine receptors in the central nervous system // Int. Rev. Neurobiol.— 1982.— **23**.— P. 103—140.
25. *Раевский К. С., Георгиев В. П.* Медиаторные аминокислоты.— М. : Медицина, 1986.— 240 с.
26. *Relationships* of structure to binding of γ-aminobutiric acid (GABA) and related compounds with the GABA and benzodiazepine receptors / N. Ogava, S. Mizuno, S. Tzukamoto, A. Mori // Res. Commun. Chem. Pathol. and Pfarmacol.— 1984.— **43**, N 3.— P. 355 — 368.
27. *Olsen R. W.* GABA-benzodiazepine-barbiturate receptor interactions // Neurochem.— 1981.— **37**, N 1.— P. 1—13.
28. *Benzodiazepine* receptor ligands with negative-efficacy / C. Braestrup, T. Honore, M. Nielsen et al. // Benzodiazepine recongn. Site ligands. Biochem. and Pharmacol. 3th Capo Boi conf. neurosci (Villasimius, June, 1983).— New York : S. n., 1983.— P. 23—36.
29. *Gee K. W., Yamamura S. S., Roeske W. R.* Benzodiazepine receptor heterogeneity: possible molecular basis and functional significance // Fed. Proc.— 1984.— **43**, N 13.— P. 2767—2772.
30. *Gabargic* synapses supramoleculur organization and biochemical regulatiom / A. Guidotti, M. G. Corda, B. C. Wise et al. // Neuropharmacology. — 1983.— **22**, N 12 B.— P. 1471—1479.
31. *Richwids I. G., Mohler H.* Benzodiazepine receptors // Ibid.— 1984.— **23**, N 26.— P. 233—240.
32. *Nutt D.* Pharmacalogical and bechaviorral studies of benzodiazepine antagonists and contragonists // Benzodiazepine recogn. Site ligans. Biochem. and pharmacol. 3th Capo Bio. conf. neurosci. (Villasimius, June, 1983).— New York; S. n., 1983.— P. 153—173.
33. *Interaction* of benzodiazepine agonists and antagonists with different benzodiazepine receptors / W. Sieghard, G. Drexler, A. Mayer, A. Schuster // Ibid.— P. 11—19.
34. *Squires R. F.* Benzodiazepine receptors // Handb. Psychopharmacol.— 1984.— **18**, N 1.— P. 261—306.
35. *Mennini T., Garattini S.* Benzodiazepine receptors: correletion with pharmacological responses in living animals // Life Sci.— 1982.— **31**, N 19.— P. 2025—2035.
36. *Tallman J. E., Gallager D. W.* The GABAergic system: a locus of benzodiazepine action // Ann. Rev. Neurosci.— 1985.— **8**.— P. 21—44.
37. *Haefely W.* Antagonists of benzodiazepines: Functional aspects // Benzodiazepine recogn. Site ligands. Biochem. and pharmacol. 3th Capo Bio. Conf. Neurosci. (Villiasimius, June, 1983).— New York : S. n., 1983.— P. 73—93.
38. *Some properties* of brain specific benzodiazepine receptors: new evidence for multiple receptor / R. F. Squires, D. I. Benson, C. Braestrup et al.// Pharmacol. Biochem. and Behav.— 1979.— **10**, N 5.— P. 925—930.
39. *Schudy R. E., Barker J. L.* Cellular mechanisms of benzodiazepine action // JAMA.— 1982.— **247**, N 15.— P. 2147—2151.
40. *Sansoy N.* Les recepteurs de benzodiazepines. Notius actuelles // Cah. anesthesiol.— 1982.— **30**, N 1.— P. 77—85.
41. *Schwod M.* Les recepteures des benzodiazepines // Noew. presse med.— 1981.— **10**, N 2.— P. 75—76.
42. *Receptors* for the use of anaxiety: pharmacology of the benzodiazepines / J. F. Tallman, S. M. Paul, P. Skolnick, D. M. Qallager // Science.— 1980.— **207**, N 442 b.— P. 274—281.
43. *Burch T. P., Ticku M. K.* Ethanol enhances ^{3}H-diazepine-GABA-receptor-ionofore complex // Eur. J. Pharmacol.— 1980.— **67**, N 2/3.— P. 325 — 326.
44. *Benzodiazepines* and their metabolites: relationship between binding affinity to the binzodiazepine receptor and pharmacological activity / I. Nakatsuka, H. Shmizu, Y. Asami et al.// Life Sci.— 1985.— 36, N 2.— P. 113—119.

45. *Cohnston G. A. R., Allan R. D., Skerritt J. H.* GABA receptors // Handb. Neurochem.— New York; London, 1984.— 6.— P. 231—237.
46. *Gohnston G. A. R., Willow M.* GABA and barbiturate receptors // Frances Pharmacol. Sci.— 1982.— 3, N 8.— P. 328—330.
47. *Sanger D. J.* Minireview. GABA and the behavioral effects of anxiolytic drugs // Life Sci.— 1985.— 36, N 16.— P. 1503—1513.
48. *Biochemical* pharmacology of the γ-aminobutyric acid receptor / ionofor protein / W. R. Olsen, E. H. F. Wong, G. B. Stauber, R. G. King // Fed. Proc.— 1984.— N 13.— P. 2773—2778.
49. *Molecular* mechanism regulation the interaction between the benzodiazepines and GABA receptors in the central nervous system / A. Guidotti, M. Baraldi, J. F. Schwartz, E. Costa // Pharmacol. Biochem. and Behav. — 1979.— 10, N 5.— P. 803—807.
50. *GABA receptor* multiplicity visualization of the differet receptor types in the mammalian CNS/N. G. Bowery, G. W. Price, G. R. Hill et al.// Neuropharmacology.— 1984.— 23, N 20.— P. 219—231.
51. *Straughan D. W.* Barbiturates, benzodiazepines and the GABA system // Neurotransmitters. Proc. 7th Int. Congr. Pharmacol. (Paris, 1978).— Oxford : S. n., 1979.— P. 19—27.
52. *Akira M., Makoto S.* Relation between time courses of pharmacological effects and of plasma levels camasepam and its activit metabolites in rats / J. Pharmacolio-Dyn.— 1985.— 8, N 8.— P. 597—606.
53. *Jaegmin P., Lesne M.* Les benzodiazepines: aspects pharmacodinamigues // J. Pharmacol. Belg.— 1985.— 40, N 1.— P. 35—54.
54. *Lippa A. S., Meyerson I. R., Beer B.* Molecular substrates of anxiety: elues from the heterogenety of benzodiazepines receptors // Life Sci.— 1982.— 31, N 14.— P. 1409—1417.
55. *Richter J. A., Holman J. R.* Barbiturates: their in vivo effects and potential biochemical mechanisms // Progr. Neurobiol.— 1982.— 18, N 4.— P. 275—284.
56. *Tallarida H. J., Jacob L. S.* The dose-responce relation in pharmacology.— New York : S. n., 1979.— 207 p.
57. *Quast U., Vollmer K. O.* Interaction of barbiturate and GABA sites in rat cerebellar and cerebral cortical membranes // Naunyn-Schmideborg's Arch. Pharmacol.— 1983.— 322, N 2.— P. 322, Suppl., Dtsch. Pharmacol. Ges. Dtsch. Physiol. Ges. Dtsch. Abstr. Joint Spring Meet, Mainz, March, 14—18, 1983.—194 p.
58. *Mennini T., Garattini S.* Benzodiazeripes receptor binding in vivo: pharmacolinetic and pharmacological significance // Benzodiazepine recogn. site ligands. Biochem. and pharmacol. 3th Capo. Bio. conf. neurosci (Villasimius, June, 1983).— New York : S. n., 1983.— P. 189—199.
59. *Sivana S. P., Nabeshima T., Ho I. K.* Acute and chronic effects of pentobarbital in relation to postsynaptic GABA receptors: a site with muscimol // J. Neurosci. Res.— 1982.— 7, N 1.— P. 37—47.
60. *Gallager D. W., Thomas J. W., Tallman J. F.* Effect of GABA-ergic drugs on benzodiazepine bindind site sensitivity in rat cerebral cortex // Biochem. Pharmacol.—1978.— 27, N 2/3.— P. 2545—2749.
61. *Ehler F. J., Roeske W. R., Yamamura H. I.* Multiple benzodiazepine receptors and their regulation by γ-aminobutyric acid // Life Sci.— 1981.— 29, N 3.— P. 235—248.
62. *Tolbert L. C.* Mechanism of action of benzodiazepines // Al. J. Med. Sci.— 1980.— 17, N 2.— P. 168—170.
63. *Comparison* of benzodiazepin receptor binding in membranes from human or rat brain / W. Sieghart, A. Eichinger, P. Hiederer, K. Jellinger // Neuropharmacology.— 1985.— 24, N 8.— P. 751—759.
64. *Sieghwit W.* Benzodiazepine receptors: multiple receptor or multiple conformations?// J. Neural Transm.— 1985.— 63, N 3/4.— P. 191—208.
65. *Методы* математической биологии. Кн. 5. Информационные методы синтеза моделей биологических систем / Под ред. О. Г. Чораян.— Киев : Вища шк., 1982.— 240 с.
66. *Heterogeneity* of benzodiazepine receptors / K. W. Gee, W. R. Roesce, R. S. Ehlert, H. I. Yamamura // Handb. Psychopharmacol.— 1983.— 17, N 21.— P. 567—593.

67. *Сергеев В. П., Шимановский Н. Л.* Фармакология бензодиазепиновых рецепторов // Фармакология и токсикология.— 1986.— № 4.— С. 108—114.
68. *Корнеев А. Я., Лидеман Г. Р.* Бензодиазепиновые рецепторы и постсинаптические ГАМК-рецепторы: свойства и взаимодействие // Успехи соврем. биологии.— 1985.— **100**, вып. 1 (4).— С. 51—67.
69. *Абрамец И. И., Комиссаров И. В.* О природе потенцирования эффектов гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) бензодиазепиновыми транквилизаторами // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1982.— **94**, № 10.— С. 58—61.
70. *Характеристика* фармакологических свойств феназепама / Т. А. Воронина, Ю. И. Вихляев, Л. Н. Неробкова и др. // Феназепам.— Киев : Наук. думка, 1982.— С. 87—181.
71. *Stone W. E., Javid M. J.* Benzodiazepines and phenobarbital as antagonists of dissimilar chemical convulsants // Epilepsia.— 1978.— **19**, N 8.— P. 361—368.
72. *Комиссаров И. В.* Элементы теории рецепторов в молекулярной фармакологии.— М. : Медицина, 1969.— 215 с.
73. *Комиссаров И. В., Абрамец И. И.* Сопряжение ионных каналов с рецепторами нейтральных аминокислот в терминалях спинальных афферентов крыс // Докл. АН СССР.— 1981.— **261**, № 6.— С. 1489—1491.
74. *Комиссаров И. В.* Аллостерические, неконкурентные и независимые модуляторы рецепторно-канальных ансамблей // Фармакология и токсикология.— 1985.— № 5.— С. 5—13.
75. *De Lorenzo R. J., Dashefsky L. H.* Anticonvulsants // Handbook of Neurochemistry.— New York ; London, 1985.— Vol. 9.— P. 363—403.
76. *Соловьев В. Н., Фирсов А. А., Филов В. А.* Фармакокинетика.— М. : Медицина, 1980.— 423 с.
77. *Методы* математической биологии. Т. 1. Общие методы анализа биологических систем / Под ред. Н. Н. Любимова.— Киев : Вища шк., 1980.— 239 с.
78. *Simon E. J.* Opiate receptor // Psycopharmacol.— 1983.— **17**, N 4.— P. 331—352.
79. *Гацура В. В.* Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ.— М. : Медицина, 1974.— 143 с.
80. *Нижний С. В., Дмитриева Н. В.* Скрининг физиологически активных соединений.— М. : Медицина, 1985.— 155 с.
81. *Жук О. В.* Взаимосвязь фармакокинетики и фармакодинамики производных 1,4-бенздиазепина (эффекторное моделирование процессов) // Тез. докл. VIII Молодеж. конф. по синтет. и природ. физиолог. актив. соединений (Ереван, сент. 1986 г.).— Ереван : Б. и., 1986.— С. 81.
82. *Моделирование* процессов антагонизма производных 1,4-бенздиазепина и барбитала натрия с судорожным действием бикукуллина и коразола / Н. Я. Головенко, В. Г. Зиньковский, О. В. Жук, В. А. Созинов // Тез. докл. Всесоюз. симпоз. «Фармакология производных гамма-аминомасляной кислоты».— Тарту : Б. и., 1983.— С. 37.
83. *Зиньковский В. Г., Головенко Н. Я., Богатский А. В.* Характер взаимосвязи между противосудорожным действием феназепама и его содержанием в головном мозге мышей // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1981. — № 1.— С. 40—42.
84. *Головенко Н. Я., Зиньковский В. Г.* Анализ компонентов судорожного действия коразола в условиях введения мышам сулазепама и его метаболитов // Там же.— 1976.— № 9.— С. 1078—1081.
85. *Головенко Н. Я., Зиньковский В. Г., Жук О. В.* Фармакокинетика и фармакодинамика феназепама, связанного с липосомами // Хим.-фармацевт. журн.— 1982.— № 2.— С. 151—157.
86. *Фармакокинетика* новых производных 1,4-бенздиазепина. Функциональное и вероятностное моделирование / В. Г. Зиньковский, Е. А. Станкевич, О. В. Жук и др. // Тез. докл. V съезда фармакологов УССР.— Запорожье : Б. и., 1985.— С. 61.
87. *Использование* дисперсионного анализа для оценки противосудорожной активности 1,4-бенздиазепинов / А. В. Богатский, О. В. Жук, В. Г. Зиньковский, Н. Я. Головенко // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1982.— № 6.— С. 62—64.

88. *Синтез* и особенности фармакокинетики ^{14}C-метаболита пептидобензофенона и некоторых препаратов бенздиазепинового ряда / В. Г. Зиньковский, Е. А. Станкевич, Н. Я. Головенко и др. // Хим.-фармацевт. журн.— 1986.— № 2.— С. 142—146.
89. *Связывание* липосомами феназепама и его фармакологические последствия / О. В. Жук, А. В. Богатский, Н. Я. Головенко и др. // Докл. АН УССР. Сер. Б.— 1981.— № 4.— С. 60—62.
90. *Syapin P. J., Rickman D. W.* Benzodiazepine receptor increase following repeated pentylentetrazole injections // Eur. J. Pharmacol.— 1981.— 72, N 1.— P. 117—120.
91. *Affect* of acute and chronic pentylentetrazol treatment on benzodiazepine and cholinergic receptor binding in rat brain / L. Harbans, P. A. Main, G. T. Shearman, A. S. Lippa // Ibid.— 1981.— 75.— N 2/3.— P. 115—119.
92. *Sonawane B. R., Gaffe S. L., Shapiro B. H.* Changes in mouse brain diazepame receptor binding after phenobarbital administration // Life Sci.— 1980.— 27, N 14.— P. 1335—1338.
93. *Беленький М. Л.* Элементы количественной оценки фармакологического эффекта.— Л. : Наука, 1963.— 356 с.
94. *Березин И. В., Клесов А. А.* Практический курс химической и ферментативной кинетики.— М. : Изд-во Моск. ун-та, 1976.— С. 20—22.
95. *Вихляев Ю. И., Клыгуль Т. А.* Фармакология феназепама // Новые лекарственные препараты : Экспресс-информ.— 1978.— № 3.— С. 2—6.
96. *Benziger R. T.* Anticonvulsant properties of chlordiazepoxide, diazepam and certain other 1,4-benzodiazepines // Arch. int. pharmacodyn. et ther.— 1965.— **153**, N 1.— P. 131—133.
97. *Orloff M., Williams P., Pfeiffer C.* Timed intravenous infusion of metrazol and strychinne fortesting anticonvulsant drugs // Proc. Soc. Exp. Biol.— 1949.— **70**, N 2.— P. 254—258.
98. *Ranzan P. M., Levy G.* Kinetics of drug action in diseases states XIV. Effect of infusion rate on pentylenetetrazol concentrations in serum, brain and cerebrospinal fluid of rats at onset of convulsion // J. Pharmacol. and Exp. Ther.— 1985.— **234**, N 3.— P. 624—628.
99. *Плохинский Н. А.* Алгоритмы биометрии.— М. : Изд-во Моск. ун-та, 1980.— 150 с.
100. *Ван-дер-Варден Б. М.* Математическая статистика.— М. : Изд-во иностр. лит., 1960.— 434 с.
101. *Дорохов В. В., Холодов Л. Е.* Анализ связи между фармакокинетическими процессами и фармакологическими эффектами у человека // Фармакология и токсикология.— 1985.— № 5.— С. 119—125.
102. *Алликметс Л. Х., Жарковский А. М., Ряго Л. К.* Психотропное действие производных гамма-аминомасляной кислоты // Целенаправленный поиск новых нейротроп. препаратов.— Рига, 1983.— С. 69—80.
103. *Roberts F., Taberner P. V.* Assessment of anticonvulsant activity of inhibitors of high-affinity GABA uptake // Brit. J. Pharmacology.— 1977.— 61, N 3.— P. 476.
104. *Investigating* benzodiazepine receptor function in vivo using an interavenous infusion of DMCM / D. L. Nutt, H. I. Littli, S. C. Taylor, M. C. W. Winohin // Eur. J. Pharmacol.— 1984.— **103**, N 3/4.— P. 359—362.
105. *Menon M. K., Vivonia C. A., Haddox V. G.* A new method for the evaluational benzodiazepines based on their ability to block muscimol-induced myoclnic jerks in mice // Psychopharmacology.— 1981.— 75, N 3.— P. 291—293.
106. *Leppik I. R., Shrwin A. L.* Anticonvulsant activity of phenobarbital and Phenytiin in combination // J. Pharmacol. and Exp. Ther.— 1977.— 200, N 3.— P. 570—575.
107. *Головенко Н. Я., Зиньковский В. Г.* Сравнительная фармакинетика и метаболизм феназепама в организме различных видов экспериментальных животных // Феназепам.— Киев : Наук. думка, 1982.— С. 32—87.
108. *Colburn W. A.* Simultaneous pharmacokinetic and pharmacodynamic modeling // J. Pharmacokinet. and Biopharmacol.— 1981.— 9, N 3.— P. 367—388.
109. *Hayes A. G., Gartside I. B., Straughau D. W.* Effect of four convulsants on the time course of presynaptic inhibition and its relation to seizure activity // Neuropharmacology.— 1977.— **16**, N 11.— P. 725—730.

110. *Vazguez A. J., Diamond I. B., Sabelli H. C.* Differential effects and pentobarbital on isolated nervous tissue // Epilepsia.— 1975.— 16, N 4.— P. 601—608.
111. *Cutler R. W. P., Young J.* The effect of pinicilin on the released of the γ-aminobutiric acid from cerebral cortex slices // Brain Res.— 1979.— 170, N 1.— P. 157—163.
112. *Stephenz D. N.* Tolerance to the antipunichment effects of diazepam in mice // Brit. J. Pharmacol.— 1985.— 85, Suppl.— P. 249.
113. *Robichaud R. C., Goldberg M. E.* Pharmacological properties of two chlorodiazepoxede metabolites following microsomal enzyme inhibition // Arch. int. pharmacodyn. et ther.— 1974.— 211, N 1.— P. 165—173.
114. *File S. E.* Tolerance to the bechavioral actions of benzodiazepines // Neurosci. and Biobehav. Rev.— 1985.— 9, N 1.— P. 113—121.
115. *Prophilaxic* with diphenylhydantoin and phenobarbital in alumina-gel monkey model.; 1. Twelve Monthe of treatment; Seizure, EEC, blood and behavioral data / G. S. Lockard, W. C. Congdon et al. // Epilepsia.— 1976.— 17, N 1.— P. 37—46.
116. *Acute* anticonvulsant effects of diphenylhydantoin, phenobarbital and carbamazepine — a combined electroclinical and serum level study in amygdaleid kindled cates and baboons / J. A. Wada, T. Asawa, M. Sato et al. // Ibid. — P. 77—88.
117. *Lawence L. J., Gee K. W., Yamamura H. I.* Benzodiazepine antyconvulsant action: γ-aminobutiric acid — dependent modulation of the chloride ionofore // Biochem. and Biophis.—Res. Commun.— 1984.— 123, N 3.— P. 1130—1137.
118. *Ibba M., Mennini T., Testa R.* Enhancement of diazepam activities induced by denzimol in mice // Pharmacol. Res. Comm.—1985. — 17, N 1.—P. 95—103.
119. *Связь* между структурой, сродством к бенздиазепиновому рецептору и свойствами 5-галогенофенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов / С. А. Андронати, В. М. Чепелев, Л. Н. Якубовская и др. // Биооргаи. химия.— 1983.— 9, № 10.— С. 1357—1361.
120. *Gray I. A., Mellanby I., Bucklands C.* Bihavionral studies of the role GABA in anxiolytic drug action // Neuropharmacology.— 1984.— 23, N 7.— P. 827.
121. *Codding P. W., Nuir A. K. B.* Molecular structure of Ro 15—1788 and a model for the binding of benzodiazepine receptor ligands. Structural indentification of common fsauters in antagonists // Mol. Pharmacol.— 1985.— 28, N 2.— P. 178—184.
122. *Garrett R. L., Bourn W. M.* Convulsant component of a depresant benzodiazepine // Life Sci.— 1985.— 37, N 20.— P. 1933—1939.
123. *Pellow S., File S. F.* Multiple sites of action for anxiogenic drugs: bechavior, electrophisiological and biochemical correlations // Psychopharmacology.— 1984.— 83, N 4.— P. 304—315.
124. *Фирсов А. А., Геодокян С. В.* Фармакокинетика: достижения и тенденции развития // Хим.-фармацевт. журн.— 1984.— № 5.— С. 521—529.
125. *Количественная* токсикология / А. А. Голубев, Е. А. Люблина, Н. А. Толоконцев, В. А. Филов.— М. : Медицина, 1973.— 287 с.
126. *Chan N. Ph.* Are-dose relationship in nonlinear models // J. Pharmacokin. and Biopharm.— 1976.— 4, N 7.— P. 537—551.
127. *Hafner D., Meinen R., Noack E.* Matematical analysis of concentration-response relationships // J. Pharmacol. and Exp. Ther.— 1976.— 119, N 1.— P. 67—73.
128. *Brock N., Schneider B.* Models and methods for the assessmen of cumulation of drug effects // Arzneimitt.-Forsch.— 1980.— 30, N 7.— P. 1034—1040.
129. *Hoogland D. R., Miya T. S., Bousguet T. F.* Metabolism and tolerance studies with chlordiazepoxide-2-^{14}C in the rat // Toxicol. and Appl. Pharmacol.— 1966.— 9, N 1.— P. 116—123.
130. *Diazepam* metabolism and anticonvulsant activity in newborn animals / F. Marcucci, E. Mussini, L. Arnolde et al. // Biochem. Pharmacol.— 1973.— 22, N 23.— P. 3051—3059.
131. *Bond A. J., Hailey D. M., Lader M. H.* Plasma concentrations of benzodiazepines // Brit. J. Clin. Pharmacol.— 1977.— 4, N 1.— P. 51—56.

132. *Dispozition* and anticonvulsant activity of bromazepam in mice / M. A. Schwartz, W. R. Pol, D. L. Hane, E. Postma // Drug metab. and Dispos. Biol. Fate. Chem.— 1974.— 2, N 1.— P. 31—39.
133. *Coutino C. B., Cheripko J. A., Cwibone J. J.* Correlation between the duration of the anticonvulsant of diazepam and its phisiological disposition in mice // Biochem. Pharmacol.— 1970.— 19, N 2.— P. 363—379.
134. *Metabolism* and anticonvulsant activity of diazepam in quinea pigs / F. Marcucci, A. Quaitani, R. Fanelli et al. // Ibid.— 1973.— 20, N 7.— P. 1711—1713.
135. *Special* differences in diazepam metabolism. 1. Metabolism of diazepame metabolites O / F. Marcucci, E. Mussini, R. Fanelli, S. Garattini // Ibid. — 1970.— 19, N 5.— P. 1834—1851.
136. *Coutino C. B., Cheripko J. A., Carbone S. J.* Relationship between the duration of anticonvulsant activity of chlordiazepoxid and systemic levels of the parent compaund and its metabolites in mice // Ibid.— 1969.— 18, N 2.— P. 303—316.
137. *Species* difference in diazepam metabolism and anticonvulsant effect / F. Marcucci, F. Gueitani, J. Kvetiana et al. // Eur. Pharmacol.— 1968. — 4, N 6.— P. 467—470.
138. *Toxicological* and pharmacological investigations of pinazepam (7-chloro-1-propargyl-5-phenyl-3H-1, 4-benzodiazepine-2-one): a new psychotherapevtic agent O / F. Serellini, S. Caliari, A. Romano, P. Torchio // Atzneimitt.-Forsch.— 1975.— 25, N 6.— P. 934—940.
139. *Bernareggi V., Bugada G., Levi C.* Absorption and pharmacological activities of new diazepam preparation // Ibid.— 1979.— 20, N 9.— P. 1230—1232.
140. *Dasber H.* The effect of dailycarat donage of diazepam plasma concentrations and metabolic clearence of diazepam and demethyldiazepam on various constituents of the acute clinical anxiety syndrome // Psychother. Psycosom.— 1974.— 24, N 2/3.— P. 113—118.
141. *Diazepam* metabolism in normal man. 1. Serum concentration and clinical a effects after intravenous, intramuscular and oral Administration / R. Hillestad, T. Bansen, H. Melson, A. Drivenes // Clin. Pharm. and Ther.— 1974. — 16, N 3.— P. 479—484.
142. *Hansen T.* Diazepam. Dosage according to pharmacokinetic or clonical criterial // Med. Norsk. Pharm. Selek.— 1977.— 39, N 4.— P. 245—263.
143. *Hansen T., Melson H., Hillested L.* Diazepam metabolism in normal man. 11. Serum concentration and clinical effects after oral administration and cumulation // Clin. Pharmacol. and Ther.— 1974.— 16, N 3, pt. 1.— P. 485—489.
144. *Gender-related* differences in diazepam dynamics / S. M. Meleod, H. G. Giles, D. Poster et al. // Ibid.— 1979.— 25, N 2.— P. 236—238.
145. *Somani S. M., McDonald R. M., Schumacer D. P.* Pharmacokineties of secobarbital in Rabbit // Arch. int. pharmacodyn. et ther.— 1975.— 215, N 2.— P. 301—317.
146. *Pharmacokinetics* of hexobarbital in man after intravenous infusion / D. D. Breimer, C. Honhoff, W. Likly et al. // J. Pharmacokinet. and Biopharm.— 1975.— 3, N 1.— P. 1—11.
147. *Estimation* of plasma unbound phenobarbital concentration by using mixid salina / K. Nishihara, K. Uchino, Y. Saitoh et al. // Epilepsia. — 1979.— 20, N 1.— P. 37—45.
148. *Brain* disposition, Liver metabolism and behavioral responts to barbiturates in inbred «sensitive» and «resistant» mice / S. Haleuy, M. J. Frumin, S. Rosenthal, W. G. Levine // Brit. J. Anaesth.— 1974.— 46, N 1.— P. 43—49.
149. *Biopharmaceutical* and clinical pharmacokinetic profil of bromazepam / S. A. Kaplan, M. B. Back, N. Weinfeld // J. Pharmacokin. and Biopharm.— 1976.— 4, N 1.— P. 1—16.
150. *Экономов А. Д., Жердев В. П., Воронина Т. А.* Корреляция между фармакокинетикой и фармакодинамикой феназепама у крыс // Тез. докл. Всесоюз. конф. «Методы индивидуализации и оптимизации применения лекарств на основе изучения их фармакокинетики».— Тбилиси : Б. и., 1982.— Ч. 1.— С. 145—148.

151. *Головенко Н. Я.* Механизмы реакций метаболизма ксенобиотиков в биологических мембранах.— Киев : Наук. думка, 1981.— 219 с.
152. *Сравнительный* анализ фармакокинетики N_1-незамещенных производных 1,4-бензодиазепинов / С. А. Андронати, Н. Я. Головенко, В. Г. Зиньковский и др. // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1986.— № 2.— С. 180—182.
153. *Экспериментальное* изучение генетических различий в метаболизме и распределения ^{14}C-феназепама / С. Б. Середенин, В. Г. Зиньковский, Н. Я. Головенко, И. В. Рыбина // Хим.-фармацевт. журн.— 1981.— № 9. —С. 23—26.
154. *Факторы,* изменяющие метаболизм и распределение феназепама в субклеточных фракциях гепатоцитов животных / Н. Я. Головенко, В. Г. Зиньковский, О. В. Жук и др. // Вопр. мед. химии.— 1984.— № 4.— С. 67—71.
155. *Berbelli A.* Pharmacokinetica della benzodiazepine: Una rassegna // G. Neuropsychopharma.— 1984.— 6, N 1.— P. 45—49.
156. *Структура,* фармакологические свойства и аффинность к бензодиазепиновым рецепторам 1,2-дигидро-3Н-1,4-бензодиазепин-2-онов и их циклических гомологов / С. А. Андронати, В. М. Чепелев, Т. А. Воронина и др. // Хим.-фармацевт. журн.— 1985.— 19, № 5.— С. 535—539.
157. *Богатский А. В., Андронати С. А., Головенко Н. Я.* Транквилизаторы (1,4-бензодиазепины и родственные им структуры).— Киев : Наук. думка, 1980.— 356 с.
158. *Пиотровский Е.* Использование кинетики метаболизма и выведение токсических веществ в решении проблем промышленной токсикологии.— М. : Медицина, 1976.— 195 с.
159. *Корниш-Боуден Э.* Основы ферментативной кинетики.— М. : Мир, 1979.— 280 с.
160. *Гоулдинг К.* Радиоизотопные методы // Методы практической биохимии.— М. : Мир, 1978.— С. 195—208.
161. *Bernareggi V., Bugada G., Levi G.* Absorption and pharmacological activaties of a new diazepam preparation // Arsneimitt.-Forsch.— 1970.— 20, N 9.— P. 1230—1232.
162. *Hafner D., Heinen E., Noack E.* Matematical analisis of concentration-response relationshops // J. Pharmacol. end Exp. Ther.— 1976.— 199, N 1.— P. 67—73.
163. *Корнеев А. Н., Мухин А. Г., Фактор М. И.* Молекулярные механизмы фармакологического действия бензодиазепинов // Вестн. АМН СССР.— 1982.— № 1.— С. 20—28.
164. *Effects* of picrotoxinin on benzodiazepine receptor binding / A. J. Chwen, A. A. Ullogue, E. A. Swinywid, H. H. Wola // Neurochem. Res.— 1985.— 10, N 7.— P. 871—877.
165. *King R. J., Olsen R. W.* Solubilization of convulsant barbiturates binding activity on the γ-aminobutiric acid (benzodiazepine receptor complex) // Biochem. and Biophis. Res. Commun.— 1984.— 119, N 2.— P. 530—536.
166. *Interaction* of barbiturates with benzodiazepine receptor in the central nervous sistem / P. Skolnick, K. L. Barker, J. L. Paul, S. M. Rise // Brain Res.— 1982.— 233, N 1.— P. 143—156.
167. *Olsen R. W., Leeb-Lundberg F.* Convulsant and anticonvulsant drug binding sites related to the GABA receptor / ionofore sistem // Neurotransmitters seisures and epilepsy.— New York : Raven press, 1981.— P. 151 —163.
168. *Simmonds M. A.* Classification of some GABA antagonists with regard to site of action and potence in slices of rat cuneate nucleus // Eur. J. Pharmacol. — 1982.— 80, N 5.— P. 347—358.
169. *Darby S. C., Ellis M. S.* A test for synergism between two drugs // Appl. Statist.— 1976.— 25, N 3.— P. 296—299.

Глава 6

β-КАРБОЛИНЫ — ГИПОТЕТИЧЕСКИЕ ЭНДОГЕННЫЕ ЛИГАНДЫ БЕНЗДИАЗЕПИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ, ИХ РЕЦЕПТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ, ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА, ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ В ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ И ПАТОЛОГИИ, ПЕРСПЕКТИВЫ ЛЕЧЕБНОГО ПРИМЕНЕНИЯ

6.1. β-Карболины как эндогенные лиганды БДР

Первое сообщение [1] об этил-β-карболин-3-карбоксилате как возможном эндогенном лиганде БДР появилось в 1980 г., когда при хроматографическом исследовании мочи человека была выделена фракция с высоким сродством к БДР (IC_{50} порядка 4—7 нМ). Методами ПМР и масс-спектрометрии в этой фракции был идентифицирован этиловый эфир β-карболин-3-карбоновой кислоты. В опытах по вытеснению ^{3}H-флюнитразепама было определено специфическое связывание β-карболин-3-карбоновой кислоты и ее этилового эфира. При этом выявилась высокая специфичность связывания: для этилового эфира IC_{50} оказалась равной 7,0 нМ, тогда как для кислоты — 31 300 нМ.

В связи с возникшими возражениями [2, 3] по поводу признания этил-β-карболин-3-карбоксилата в качестве эндогенного лиганда БДР (ввиду использования авторами работы [1] экстракции этиловым спиртом и возможности получения артефакта) в последующих работах К. Бреструп с сотр. [4—6] представили подробные данные также о свойствах других эфиров β-карболин-3-карбоновой кислоты: метилового и пропилового, а для радиорецепторных исследований были синтезированы эфиры, меченные тритием. Были изучены основные показатели, характеризующие рецепторное связывание ^{3}H-β-карболинов с БДР (величины $K_Д$ и B_m), кинетика связывания, форма графиков Скетчарда и определены константы ингибирования (K_i), получаемые при вытеснении меченных лигандов различными производными БД и β-карболинов. В качестве убедительных доказательств своей гипотезы авторы приводят следующие аргументы:

более высокая (на несколько порядков) способность связываться с БДР по сравнению со всеми соединениями, предлагавшимися ранее на роль эндогенных лигандов (никотинамид, инозин, гипоксантин и др.);

весьма близкие величины показателей специфического связывания (IC_{50}) для большого числа производных БД и β-карболина, получаемых при вытеснении ими радиоактивных лигандов как внутри каждой группы, так и при перекрестном вытеснении;

наличие достаточно высокой способности к специфическому связыванию с рецепторами, меченными ^{3}Н-β-карболинами, только у тех веществ других химических классов, которые снижают связывание ^{3}Н-диазепама и ^{3}Н-флюнитразепама, например у производных триазолопиридазинов;

идентичность распределения специфических мест связывания ^{3}Н-эфиров β-карболин-3-карбоновой кислоты и ^{3}Н-БД по отделам мозга, более значительное их содержание в коре больших полушарий и мозжечке, подкорковых узлах, гипоталамусе и более низкое — в стволе и спинном мозгу.

Перечисленные данные подтверждены в ряде работ [7—10]. При этом показано не только сохранение в общем ранговых мест отдельных БД по их способности вытеснять ^{3}Н-этил-, ^{3}Н-пропил-β-карболин-3-карбоксилаты и ^{3}Н-флюнитразепам, но и сохранение стереоспецифичности для изученных ранее S (+) и R (—) энантиомеров Ro 11—3129 и Ro 11—3625. Сходные порядки величин IC_{50} при замещении радиоактивных лигандов — представителей групп БД и β-карболинов получены также для производных триазолопиридазинов. В результате факт возможной роли производных β-карболина в качестве эндогенных лигандов БДР был признан многими авторами. Вместе с тем уже в первый период изучения β-карболинов были выявлены их необычные свойства, что не укладывалось в сложившееся представление о характере и функциональном значении БДР. Так, в отличие от БД и близких к ним по фармакологической характеристике анксиолитических веществ, в присутствии ГАМК не отмечено повышения специфического связывания ^{3}Н-этил-β-карболин-3-карбоксилата с БДР [8, 9], обнаружено существенное снижение специфического связывания метилового эфира [6] и только для пропилового эфира выявлено незначительное повышение специфического связывания [5, 10]. Наряду с этим установлено, что некоторые эфиры β-карболин-3-карбоновой кислоты (метиловый, этиловый) и близкие к ним соединения, в отличие от БД, не только не предохраняют животных от судорог, но даже дают противоположный эффект (проконвульсивный) или сами вызывают их [11—16]. Аналогичное антагонизирующее действие эти соединения оказывают и в отношении анксиолитического эффекта БД [16]. Обнаружен прямой антагонизм некоторых производных β-карболинов с БД и ГАМК по их действию на спайковую активность нейронов гиппокампа [17—19] и спинальных нейронов [20].

Эпилептогенные свойства выявлены также у некоторых представителей широкой группы β-карболинов, которые не обладают свойством высокоспецифического связывания с БДР, в частности, у норгармана, гармана, гармалина [21—23].

Указанные особенности рецепторного связывания и фармакологической характеристики производных β-карболинов потребовали объяснения полученных фактов и разработки новых теоретических концепций о роли БДР. В связи с тем, что высокая способность к специфическому связыванию с БДР сочеталась у ряда производных β-карболина с фармакологическими эффектами, прямо противоположными БД, возникли вопросы: что же считать проявлением активности

БДР в организме и какова направленность физиологического действия истинных эндогенных лигандов этих рецепторов? Являются ли они антиконвульсантами и анксиолитиками, либо наоборот, проконвульсантами и анксиогенными соединениями? Некоторые исследователи в области изучения β-карболинов с самого начала обосновывали гипотезу, отводящую им роль истинных эндогенных лигандов, т. е. агонистов БДР. В этом случае сами БД рассматривались как экзогенные, искусственные антагонисты рецепторов [1, 2, 5, 6, 11, 17, 20, 22].

Вместе с тем сложный характер взаимоотношений между БД и β-карболинами в процессе их связывания с рецептором дал основание выдвинуть ряд предположений о механизме этого явления на рецепторном уровне: реализация разных конформаций БДР при связывании БД и β-карболинов [7]; наличие нескольких неоднородных центров специфического их связывания в БДР [24]; влияние отрицательной кооперативности рецепторов [1, 5, 26]; существование двух или нескольких типов рецепторов [5, 6, 25, 26, 27].

6.2. Радиорецепторные исследования β-карболинов

Радиорецепторные исследования свойств β-карболинов проводились в следующих направлениях:

изучение характеристик специфического связывания с БДР ^{3}H-производных β-карболинов путем определения величин K_D и B_m, коэффициентов Хилла и других показателей, используемых при изучении связывания радиолигандов с рецепторами;

сопоставление величин IC_{50} или K_i для отдельных производных β-карболинов и БД, полученных при вытеснении ими меченых радиоактивных БД и β-карболинов (как внутри каждой группы, так и при перекрестном вытеснении);

сравнение значений K_D и B_m для ^{3}H-БД и ^{3}H-β-карболинов в различных отделах мозга;

сопоставление показателей рецепторного связывания производных ^{3}H-β-карболина и ^{3}H-БД после добавления ГАМК, хлоридов, барбитуратов, пиразолопиридинов, ионов Ni^{2+} и других веществ;

изучение перекрестного связывания β-карболинов с другими соединениями, взаимодействующими с БДР (радиоактивно-меченными производными триазолпиридазинов, Ro 15—1788, Ro 15—4513, Ro 14—7437, CGS — 8216);

анализ изменений показателей связывания при воздействиях, приводящих к необратимым нарушениям структуры БДР: образование ковалентных связей при связывании некоторых производных БД (необратимое связывание) или при воздействии УФ-излучения, радиоционная инактивация, воздействие ионами серебра.

Исследования, начатые в первых работах [1, 2, 7, 20], были продолжены в большом числе последующих [10, 28—33]. В настоящее время только по данным цитируемых источников известны величины K_i или IC_{50} по вытеснению ^{3}H-диазепама или ^{3}H-флюнитразепама уже для 35 производных β-карболина, 6 — дигидрокарболина и 30 —

Таблица 6.1. Структура и показатели специфического связывания с БДР некоторых производных β-карболина

Соединение	R^1	R^3	R^4	R^5	R^6	R^7	R^9	IC_{50} к радиоактивному БД-лиганду, нМ	Литература
Норгарман (β-карболин)	H	H	H	H	H	H	H	6000	[28]
								1620	[32]
								8200	[2]
								1800	[10]
								1100	[31]
Гарман	CH_3	H	H	H	H	H	H	25 000	[28]
								12 000	[32]
								7000	[2]
	CH_3	$COOC_2H_5$	H	H	H	H	H	4900	[1,47]
Гармол	CH_3	H	H	H	H	OH	H	80 000	[28]
								111 000	[2]
Гармин	CH_3	H	H	H	H	OCH_3	H	200 000	[28]
								134 000	[2]
	C_2H_5	H	H	H	H	H	H	250 000	[32]
	C_2H_5	$COOCH_3$	H	H	H	H	H	7540	[32]
	C_2H_5	$COOCH_3$	H	H	OH	H	H	5780	[32]
	C_6H_5	$COOCH_3$	H	H	H	H	H	3890	[32]
	H	COOH	H	H	H	H	H	24 000	[32]
								31 000	[1]
								7200	[33]
								17 000	[10]
Ro 22—7497	H	$COOCH_3$	H	H	H	H	H	1,05	[32]
								19,0	[1,42]
								2,5	[33]
								2,6	[10]
								0,36	[20]
								1,4	[31]
	H	$COOCH_3$	H	H	H	H	H	5,3	[33]
	H	$COOCH_3$	H	H	OH	H	H	2,66	[32]
	H	$COOCH_3$	H	H	H	H	CH_3	50 000	[32]
ZK 90 798	H	$COOCH_3$	C_2H_5	H	OCH_3	OCH_3	H	20	[34]
								11	[64]
	H	$COOCH_2—C_6H_5$	H	H	H	H	H	21	[33]
	H	$COOCH_2—$	H	H	H	H	H	34	[33]
Ro 15—2538	H	$COOC_2H_5$	H	H	H	H	H	10	[28]
								1,1	[32]
								7,0	[1]
								1,4	[33]
								2,0	[10]
								0,1	[20]
								0,8	[31]
	H	$COOC_2H_5$	H	H	H	H	$CH_2OC_2H_5$	10 000	[28]
ZK 93 426	H	$COOC_2H_5$	CH_3	$OCH(CH_3)_2$	H	H	H	1,9	[34]
								0,4—0,7	[52]
ZK 93 423	H	$COOC_2H_5$	CH_2OCH_3	H	$OCH_2C_6H_5$	H	H	1,0	[34]
	H	$COOC_2H_5$	CH_2OCH_3	$OCH_2C_6H_5$	H	H	H	5,1	[34]
	H	$COOC_2H_4Cl$	H	H	H	H	H	22	[33]
	H	$COOC_2H_4F$	H	H	H	H	H	27	[33]

Таблица 6.1. Структура и показатели специфического связывания с БДР некоторых производных β-карболина

Соединение	R^1	R^3	R^4	R^5	R^6	R^7	R^9	IC_{50} к радиоактивному БД-лиганду, нМ	Литература
Норгарман (β-карболин)	H	H	H	H	H	H	H	6000	[28]
								1620	[32]
								8200	[2]
								1800	[10]
								1100	[31]
Гарман	CH_3	H	H	H	H	H	H	25 000	[28]
								12 000	[32]
								7000	[2]
	CH_3	$COOC_2H_5$	H	H	H	H	H	4900	[1,47]
Гармол	CH_3	H	H	H	H	OH	H	80 000	[28]
								111 000	[2]
Гармин	CH_3	H	H	H	H	OCH_3	H	200 000	[28]
								134 000	[2]
	C_2H_5	H	H	H	H	H	H	250 000	[32]
	C_2H_5	$COOCH_3$	H	H	H	H	H	7540	[32]
	C_2H_5	$COOCH_3$	H	H	OH	H	H	5780	[32]
	C_6H_5	$COOCH_3$	H	H	H	H	H	3890	[32]
	H	COOH	H	H	H	H	H	24 000	[32]

12*

	C_6H_5	$COOCH_3$	H	H	H	H	H	3890	[32]
	H	COOH	H	H	H	H	H	24 000	[32]
								31 000	[1]
								7200	[33]
								17 000	[10]
Ro 22—7497	H	$COOCH_3$	H	H	H	H	H	1,05	[32]
								19,0	[1,42]
								2,5	[33]
								2,6	[10]
								0,36	[20]
								1,4	[31]
	H	$COOCH_3$	H	H	H	H	H	5,3	[33]
	H	$COOCH_3$	H	H	OH	H	H	2,66	[32]
	H	$COOCH_3$	H	H	H	H	CH_3	50 000	[32]
ZK 90 798	H	$COOCH_3$	C_2H_5	H	OCH_3	OCH_3	H	20	[34]
								11	[64]
	H	$COOCH_2—C_6H_5$	H	H	H	H	H	21	[33]
	H	$COOCH_2—$	H	H	H	H	H	34	[33]
Ro 15—2538	H	$COOC_2H_5$	H	H	H	H	H	10	[28]
								1,1	[32]
								7,0	[1]
								1,4	[33]
								2,0	[10]
								0,1	[20]
								0,8	[31]
	H	$COOC_2H_5$	H	H	H	H	$CH_2OC_2H_5$	10 000	[28]
ZK 93 426	H	$COOC_2H_5$	CH_3	$OCH(CH_3)_2$	H	H	H	1,9	[34]
								0,4—0,7	[52]
ZK 93 423	H	$COOC_2H_5$	CH_2OCH_3	H	$OCH_2C_6H_5$	H	H	1,0	[34]
	H	$COOC_2H_5$	CH_2OCH_3	$OCH_2C_6H_5$	H	H	H	5,1	[34]
	H	$COOC_2H_4Cl$	H	H	H	H	H	22	[33]
	H	$COOC_2H_4F$	H	H	H	H	H	27	[33]

Продолжение табл. 6.1

Соединение	R¹	R³	R⁴	R⁵	R⁶	R⁷	R⁹	IC_{50} к радиоактивному БД-лиганду, нМ	Литература
	H	$COOC_2H_4CN$	H	H	H	H	H	27	[33]
	H	$COOC_2H_4N\ (CH_3)_2$	H	H	H	H	H	330	[33]
	H	$COOC_2H_4—O—CH_3$	H	H	H	H	H	145	[33]
	H	$COOC_3H_7$	H	H	H	H	H	1,0	[32]
								1,5	[10]
								1,8	[31]
								4,6	[33]
								5,6	[7]
	H	$COOC_4H_9$	H	H	H	H	H	2,9	[33]
	H	$COOC_6H_5$	H	H	H	H	H		
	H	COH	H	H	H	H	H	62,3	[32]
	H	$COCH_3$	H	H	H	H	H	58	[32]
FG 7142	H	$CONHCH_3$	H	H	H	H	H	150	[64]
								444	[34]
	H	$CHONCH_3$	H	H	H	H	H	3160	[32]
	H	CH_2OH	H	H	H	H	H	1470	[32]
α-карболин								250 000	[32]

тетрагидрокарболина. Наиболее обширны группы производных, изученных в работах [28, 32, 33]. Установлены следующие основные закономерности (табл. 6.1—6.3).

1. Способностью к высокоспецифическому связыванию с БДР обладают только производные β-карболина. Изученные производные дигидро- и тетрагидро-β-карболинов ингибируют специфическое связывание ^{3}H-радиолигандов с ЦБДР в миллимикромолярных концентрациях; ни одно из них не имеет показателей IC_{50} или K_i ниже 0,25 мкмоль.

Таблица 6.2. **Структура и показатели специфического связывания с БДР некоторых производных дигидро-β-карболина**

Соединение	R^1	R^3	R^4	R^5	R^6	R^7	IC_{50} к радиоактивному БД-лиганду, нМ	Литература
Гармалин	CH_3	H	H	H	H	OCH_3	380 000	[28]
							390 000	[2; 3]
Гармалол	CH_3	H	H	H	H	OH	160 000	[28]
							305 000	[2]
							150 500	[30]
6-метокси-гармалан	CH_3	H	H	H	OCH_3	H	46 900	[30]
							150 000	[3]
Ro 22—7495	H	COOH	H	H	H	H	10 000	[20]
Ro 22—7496	H	$COOC_2H_5$	H	H	H	H	9	[20]

2. Введение в молекулу β-карболина дополнительных заместителей в 1- и 9-м положениях снижает аффинность к БДР на 1 и 2 порядка.

3. β-Карболин-3-карбоновая кислота по разным источникам имеет величину IC_{50} в пределах 7 200—31 000 нМ, а аффинность ее производных возрастает в ряду: метиламид (IC_{50} = 444 нМ) 2′-*N*-диметиламиноэтиловый эфир (IC_{50} = 330 нМ), ароматические (IC_{50} = 21—34 нМ), 2′-галоген и 2′-циан-этиловые (IC_{50} = 22—29 нМ) и алкиловые эфиры (IC_{50} = 1,0—29 нМ) (табл. 6.1).

4. При введении различных заместителей в 4—7-е положения молекулы β-карболина наблюдаются разнообразные по направленности изменения аффинности к БДР. В связи с этим синтезирован ряд новых 4—7-замещенных алкиловых эфиров β-карболин-3-карбоновой кислоты, многие из которых имеют иной спектр свойств и представ-

ляют интерес как средства дальнейшего анализа механизмов взаимодействия β-карболинов с БДР как in vivo, так и in vitro [34] (табл. 6.4).

5. Растительные алкалоиды, входящие в группу β-карболинов и их гидрированных производных (гарман, норгарман, гармалин, гармол), связываются с БДР в микромолярных и даже миллимолярных концентрациях, а наиболее часто встречающиеся среди алкалоидов растительного происхождения 1-замещенные β-карболины отличаются низкой аффинностью к БДР (табл. 6.2 и 6.3). Сведения о столь высокой избирательности и специфичности связывания в сочетании с полученными в ряде работ данными о возможности обнаружения эфиров β-карболин-3-карбоновой кислоты в моче и мозгу животных и человека [1, 5, 22, 23, 35—38] являются вескими доводами для рассмотрения некоторых производных β-карболинов как возможных эндогенных лигандов БДР.

Кинетика связывания ^{3}H-β-карболинов с БДР исследовалась уже в первых работах группы К. Бреструпа [1,4—6,25], а затем этим [26, 27] и многими другими коллективами авторов [7, 8, 10, 39—41]. С самого начала были установлены особенности связывания β-карболинов. В отличие от характерных для большинства БД прямолинейных графиков Скетчарда и величины коэффициента Хилла, близкого к единице, для ^{3}H-этил-β-карболин-3-карбоксилата выявлен коэффициент Хилла значительно меньше 1,0 и вогнутый, криволинейный график Скетчарда [1]. В некоторых случаях (например, для ткани гиппокампа) графики имели выпуклую часть в области малых кон-

Таблица 6.3. **Структура и показатели специфического связывания с БДР некоторых производных тетрагидро-β-карболина**

(Структурная формула: тетрагидро-β-карболин с заместителями R^1, R^3, R^4, R^5, R^6, R^7, R^9; NH)

R^1	R^2	R^3	R^6	R^7	R^9	IC_{50} к радиоактивному БД-лиганду, нМ	Литература
H	H	H	H	H	H	1 000 000	[28]
CH_3	H	H	H	H	H	1 450 000	[2]
CH_3	H	H	H	OCH_3	H	1 000 000	[28]
						100 000	[32]
H	H	$COOCH_3$	H	H	H	920 000	[2]
						6000	[28]
						17 000	[1]
						250	[33]
H	H	$COOCH_3$	H	H	H	11 000	[10]
						6000	[28]
						16 000	[10]

R^1	R^2	R^3	R^6	R^7	R^9	IC_{50} к радиоактивному БД-лиганду, нМ	Литература
H	H	$COOC_2H_5$	H	H	H	4000	[28]
						4900	[1]
						6000	[33]
						2400	[10]
H	H	$COOC_2H_5$	H	H	H	6000	[28]
						190	[10]
H	H	$COOCH_3$	OH	H	H	573	[32]
H	H	H	OCH_3	H	H	500 000	[32]
H	H	H	OH	H	H	100 000	[32]
						3 620 000	[2]
H	CH_3	H	H	H	H	100 000	[32]
H	H	COOH	H	H	H	84 200	[1]
						22 000	[33]
CH_3	H	COOH	H	H	H	6 330 000	[2]
						400 000	[1]
CH_3	H	$COOC_2H_5$	H	H	H	400 000	[1]
C_6H_5	H	$COOCH_3$	H	H	H	54 000	[32]
C_6H_5	H	$COOCH_3$	H	H	H	174 000	[32]
H	H	$COOCH_3$	H	H	CH_3	4500	[32]
C_6H_5	H	$COOCH_3$	H	H	CH_3	100 000	[32]
C_6H_5	H	CH_2OH	H	H	H	6110	[32]
CH_3	H	$COOCH_3$	H	H	H	50 000	[32]
CH_2OH	H	$COOCH_3$	H	H	H	5000	[32]
CH_2OH	H	$COOCH_3$	H	H	H	5100	[32]
C_2H_5	H	$COOCH_3$	H	H	H	100 000	[32]
C_2H_5	H	$COOCH_3$	OH	H	H	100 000	[32]
C_2H_5	H	$COOCH_3$	OH	H	H	39 000	[32]
3-пиридил	H	$COOCH_3$	H	H	H	6250	[32]
C_2H_5	H	$COOCH_3$	H	H	CH_3	100 000	[32]
H	H	$COOC_3H_7$	H	H	H	4400	[33]
H	H	$COOC_4H_9$	H	H	H	4800	[33]
H	H	$COOCH_2C_6H_5$	H	H	H	2700	[33]
		Триптофан				5 000 000	[56]
		L-триптофанил-глицин				80 000	[56]

центраций лиганда [1, 4—8]. В связи с этим было высказано несколько гипотез: связывание с двумя или более рецепторами с различным сродством; существование отрицательной кооперативности; наличие димерной или тетрамерной структуры рецептора с положительной кооперативностью и др. В работах с использованием различных радиоактивных эфиров β-карболин-3-карбоновой кислоты (этилового, пропилового, фенилового, метилового) К. Бреструп с сотр. [4—6, 25, 26] показали наличие двух типов БДР (I и II), причем ^3H-эфиры β-карболинов обладают более высоким сродством к БДР I. Расчеты показали, что отношение БДР I и II составляет в мозжечке — 91 к 9 %, в коре мозга — 75 к 25 %, в гиппокампе — 50—60 к 50—40 %.

Различия в распределении двух типов БДР отражаются также на показателях IC_{50}. Так, при сравнении показателей IC_{50} при вытесне-

Таблица 6.4. **Характеристика некоторых 4,5,6- и 7-замещенных β-карболинов [34, 52]**

Фирменный шифр препарата	R^3	R^4	R^5	R^6	R^7	IC_{50} к ^{3}H-флюнитразепаму, нМ	Направленность действия препарата на БДР по современной классификации
ZK 90 798	$-COOCH_3$	$-C_2H_5$	—	$-OCH_3$	$-OCH_3$	20	Обратный (инверсионный) агонист
FG 7142	$-CONHCH_3$	—	—	—	—	444	То же
ZK 91 296	$-COOC_2H_5$	$-CH_2OCH_3$	$-OCH_2Ph$	—	—	5,1	Чистый (парциальный) агонист
ZK 93 426	$-COOC_2H_5$	$-CH_3$	$-OCH(CH_3)_2$	—	—	1,9	Чистый антагонист
ZK 93 426						0,4 (мозжечок)	
ZK 93 426						0,7 (гиппокамп)	
ZK 93 423	$-COOC_2H_5$	$-CH_2OCH_3$	—	$-OCH_2Ph$		1,0	Агонист
ZK 90 886	$-COOC_2H_5$	$-C_2H_5$	$-CH_3$	—	—		

нии отдельными производными БД ^{3}Н-флюнитразепама и ^{3}Н-пропил-β-карболин-3-карбоксилата существенные региональные различия величин IC_{50} между мозжечком и гиппокампом отсутствовали. При вытеснении ^{3}Н-флюнитразепама β-карболинами эти различия оказываются весьма существенными. Повышенную способность к вытеснению ^{3}Н-флюнитразепама β-карболины проявляют по отношению к ткани мозжечка. Если же в качестве радиоактивного лиганда применялся ^{3}Н-пропил-β-карболин-3-карбоксилат, то при вытеснении его β-карболинами регионарные различия для этил- и метил-β-карболин-3-карбоксилата составили только 2,1 и 1,3 [26]. Авторы делают вывод о том, что БД «не различают» два типа БДР, тогда как β-карболины предпочтительно связываются с БДР I.

Сложный характер связывания с рецепторами эфиров β-карболин-3-карбоновой кислоты подтверждены в работах [7, 40], в которых на основании регрессионного анализа графиков Скетчарда высказано предположение о наличии трех типов рецепторов, связывающих β-карболины с низкой, высокой и сверхвысокой аффинностью.

Подтверждены также данные о региональных различиях в связывании БД и β-карболинов [10, 31, 39, 41—45], причем особенно демонстративны различия при сравнении ткани мозжечка с тканью коры мозга и гиппокампа. В литературе отмечены также сложные соотношения в связывании отдельных хиральных производных β-карболинов [10], причем не только выявлены особенности при связывании каждой из форм при вытеснении ими ^{3}Н-диазепама и ^{3}Н-пропил-β-карболин-3-карбоксилата по соотношению их IC_{50} (до 90 раз), но и отмечено более высокое связывание одного из энантиомеров в зависимости от строения алкилкарбоксилатной группы [10]. Другие авторы [28] подобных различий не наблюдали.

При изучении литературных данных о распределении концентрации БДР наблюдаются различия по регионам мозга в зависимости как от вида радиолиганда, так и от природы вытесняющего его конкурента [10, 31, 39, 41—45]. Поэтому имеются некоторые противоречия в оценке величины B_m для ^{3}Н-БД и β-карболинов [10, 31, 43]. В работах [24, 26, 30, 31, 40, 41, 44, 46—51] подробно рассмотрены особенности взаимодействия β-карболинов с ГАМК-БД-рецепторно-ионофорным

ансамблем. Установлено, что влияние ГАМК и ее агонистов на связывание некоторых указанных выше производных β-карболинов является бикукуллинзависимым [25, 31]. Агонисты ГАМК, не действующие активирующе на связывание БД, не влияют и на связывание с БДР эфиров β-карболин-3-карбоновой кислоты [5, 26].

У части производных β-карболина установлена связь между степенью повышения показателей связывания с БДР в присутствии ГАМК или ее агонистов и наличием слабых противосудорожных и анксиолитических свойств. Наоборот, у производных β-карболина, у которых связывание с БДР в присутствии ГАМК не изменялось или снижалось, выявлены в большинстве случаев выраженные анксиогенные и проконвульсантные свойства. На основании этих исследований в работах [46—48, 50] предложено использовать методику определения влияния ГАМК или мусцимола на связывание различных производных β-карболинов с БДР как надежный тест для предсказания свойств агонистов, антагонистов и обратных агонистов БДР. Это правило подтвердилось при сопоставлении двух противоположных по фармакологическим свойствам групп производных β-карболина [46, 47] — группы производных β-карболина с незначительными БД-подобными фармакологическими эффектами (ZK 93 423 и ZK 91 296) с величиной коэффициента воздействия ГАМК значительно выше единицы (2,17 и 1,23) и группы производных β-карболина с выраженными проконвульсивными, анксиогенными эффектами и показателями специфического связывания с БДР (ZK 90798, FG 7142, метил- и этил-β-карболин-3-карбоксилатами), у которых коэффициенты воздействия ГАМК были соответственно равны 0,46; 0,87; 0,61; 0,86 (табл. 6.5).

Указанные сложные отношения показали недостаточность одного лишь метода определения коэффициента отношения ГАМК для предсказания фармакологических свойств веществ. В связи с этим предложены тесты по учету влияния на специфическое связывание испытуемых веществ барбитуратов [39, 58], пиразолопиридазинов [39, 48]. Целенаправленный поиск новых производных β-карболина с учетом перечисленных тестов показал, что среди них могут быть найдены соединения с описанными выше вариантами фармакологической ак-

Таблица 6.4. **Характеристика некоторых 4,5,6- и 7-замещенных β-карболинов**

Фирменный шифр препарата	R^3	R^4	R^5
ZK 90 798	$—COOCH_3$	$—C_2H_5$	—
FG 7142	$—CONHCH_3$	—	—
ZK 91 296	$—COOC_2H_5$	$—CH_2OCH_3$	$—OCH_2Ph$
ZK 93 426	$—COOC_2H_5$	$—CH_3$	$—OCH(CH_3)_2$
ZK 93 426			
ZK 93 426			
ZK 93 423	$—COOC_2H_5$	$—CH_2OCH_3$	—
ZK 90 886	$—COOC_2H_5$	$—C_2H_5$	$—CH_3$

нии отдельными производными БД ^{3}H-флюнитразепама и ^{3}H-пропил-β-карболин-3-карбоксилата существенные региональные различия величин IC_{50} между мозжечком и гиппокампом отсутствовали. При вытеснении ^{3}H-флюнитразепама β-карболинами эти различия оказываются весьма существенными. Повышенную способность к вытеснению ^{3}H-флюнитразепама β-карболины проявляют по отношению к ткани мозжечка. Если же в качестве радиоактивного лиганда применялся ^{3}H-пропил-β-карболин-3-карбоксилат, то при вытеснении его β-карболинами регионарные различия для этил- и метил-β-карболин-3-карбоксилата составили только 2,1 и 1,3 [26]. Авторы делают вывод о том, что БД «не различают» два типа БДР, тогда как β-карболины предпочтительно связываются с БДР I.

Сложный характер связывания с рецепторами эфиров β-карболин-3-карбоновой кислоты подтверждены в работах [7, 40], в которых на основании регрессионного анализа графиков Скетчарда высказано предположение о наличии трех типов рецепторов, связывающих β-карболины с низкой, высокой и сверхвысокой аффинностью.

Подтверждены также данные о региональных различиях в связывании БД и β-карболинов [10, 31, 39, 41—45], причем особенно демонстративны различия при сравнении ткани мозжечка с тканью коры мозга и гиппокампа. В литературе отмечены также сложные соотношения в связывании отдельных хиральных производных β-карболинов [10], причем не только выявлены особенности при связывании каждой из форм при вытеснении ими ^{3}H-диазепама и ^{3}H-пропил-β-карболин-3-карбоксилата по соотношению их IC_{50} (до 90 раз), но и отмечено более высокое связывание одного из энантиомеров в зависимости от строения алкилкарбоксилатной группы [10]. Другие авторы [28] подобных различий не наблюдали.

При изучении литературных данных о распределении концентрации БДР наблюдаются различия по регионам мозга в зависимости как от вида радиолиганда, так и от природы вытесняющего его конкурента [10, 31, 39, 41—45]. Поэтому имеются некоторые противоречия в оценке величины B_m для ^{3}H-БД и β-карболинов [10, 31, 43]. В работах [24, 26, 30, 31, 40, 41, 44, 46—51] подробно рассмотрены особенности взаимодействия β-карболинов с ГАМК-БД-рецепторно-ионофорным

[34, 52]

R^6	R^7	IC_{50} к ^{3}Н-флюнитразепаму, нМ	Направленность действия препарата на БДР по современной классификации
$-OCH_3$	$-OCH_3$	20	Обратный (инверсионный) агонист
—	—	444	То же
—	—	5,1	Чистый (парциальный) агонист
—	—	1,9	Чистый антагонист
		0,4 (мозжечок)	
		0,7 (гиппокамп)	
$-OCH_2Ph$		1,0	Агонист
—	—		

ансамблем. Установлено, что влияние ГАМК и ее агонистов на связывание некоторых указанных выше производных β-карболинов является бикукуллинзависимым [25, 31]. Агонисты ГАМК, не действующие активирующе на связывание БД, не влияют и на связывание с БДР эфиров β-карболин-3-карбоновой кислоты [5, 26].

У части производных β-карболина установлена связь между степенью повышения показателей связывания с БДР в присутствии ГАМК или ее агонистов и наличием слабых противосудорожных и анксиолитических свойств. Наоборот, у производных β-карболина, у которых связывание с БДР в присутствии ГАМК не изменялось или снижалось, выявлены в большинстве случаев выраженные анксиогенные и проконвульсантные свойства. На основании этих исследований в работах [46—48, 50] предложено использовать методику определения влияния ГАМК или мусцимола на связывание различных производных β-карболинов с БДР как надежный тест для предсказания свойств агонистов, антагонистов и обратных агонистов БДР. Это правило подтвердилось при сопоставлении двух противоположных по фармакологическим свойствам групп производных β-карболина [46, 47] — группы производных β-карболина с незначительными БД-подобными фармакологическими эффектами (ZK 93 423 и ZK 91 296) с величиной коэффициента воздействия ГАМК значительно выше единицы (2,17 и 1,23) и группы производных β-карболина с выраженными проконвульсивными, анксиогенными эффектами и показателями специфического связывания с БДР (ZK 90798, FG 7142, метил- и этил-β-карболин-3-карбоксилатами), у которых коэффициенты воздействия ГАМК были соответственно равны 0,46; 0,87; 0,61; 0,86 (табл. 6.5).

Указанные сложные отношения показали недостаточность одного лишь метода определения коэффициента отношения ГАМК для предсказания фармакологических свойств веществ. В связи с этим предложены тесты по учету влияния на специфическое связывание испытуемых веществ барбитуратов [39, 58], пиразолопиридазинов [39, 48]. Целенаправленный поиск новых производных β-карболина с учетом перечисленных тестов показал, что среди них могут быть найдены соединения с описанными выше вариантами фармакологической ак-

Таблица 6.5. **Тест ГАМК-воздействия (GABA — ratio) как показатель направленности производных БД и β-карболина и других веществ, реагирующих с БДР**

Препарат	Используемый радиоактивный лиганд, обозначенный показатель					Направленность воздействия по БДР
	IC_{50} по ^{3}H-диазепаму или по ^{3}H-флюнитразепаму	по показателям связывания	IC_{50} по ^{3}H-этил-β-карболин-3-карбоксилату	по показателям связывания β-карболинов	по показателям связывания ^{3}H-Ro 15—1788	
Флюнитразепам	2,2 [52]	2,45 [47]	—	—	2,7 [50]	Агонист
Алпразолам	—	—	21,6 [48]	1,8 [48]	—	»
Диазепам	10,5 [52]	2,30 [47]	30 [48]	1,67 [48]	2,9±0,1 [50]	»
Хлордиазепоксид	1072 [52]	2,23 [47]	—	—	—	»
ZK 93 423	1,0 [34]	2,17 [34]	—	—	—	»
ZK 93 426	1,9 [34]	1,39 [52]	—	—	—	Обратный агонист
ZK 91 296	5,1 [34]	1,23 [52]	—	—	—	Антагонист
Ro 15—1788	3,3 [34]	1,22 [47]	3,5 [48]	1,0 [48]	1,0 [50]	Парциальный агонист
Пропил-β-карболин-3-карбоксилат	1,5 [5]	1,11 [47]	—	—	1,0 [50]	Антагонист
Этил-β-карболин-3-карбоксилат	7 [1]	0,86 [47]	—	—	—	Обратный агонист
FG 7142	444 [34]	0,87 [47]	—	—	—	То же
Метил-β-карболин-3-карбоксилат	19 [1]	0,61 [47]	—	—	0,6 [50]	» »
Ацетил-β-карболин	—	—	140 [48]	1,0 [48]	—	» »
ZK 90 798	20 [34]	0,46 [34]	—	—	—	» »

Примечание. В квадратных скобках указаны номера цитируемых источников.

тивности, т. е. агонисты, антагонисты и обратные агонисты, в том числе со слабо выраженными свойствами [34, 46, 51, 52, 59, 60—64]. Данные для ряда вновь синтезированных веществ этой промежуточной группы приведены в табл. 6.5.

Учитывая известные для ^{3}H-БД факты усиления связывания их с БДР в присутствии анионов хлора и суммирования этого эффекта с эффектом влияния добавок ГАМК, авторы [24, 39—41] изучали влияние анионов хлора и совместного с ГАМК его действия на рецепторное связывание ^{3}H-β-карболинов. При этом было выявлено преимущественное влияние аниона хлора на связывание β-карболинов с БДР [7, 41]. Для пропил-β-карболин-3-карбоксилата связывание при добавлении хлоридов щелочных металлов почти не меняется. Если же в качестве радиоактивного лиганда используется ^{3}H-пропил-β-карболин-3-карбоксилат, то при добавлении хлорида натрия способность БД вытеснять радиоактивный лиганд уменьшается в 2 раза; добавление ГАМК в этих условиях практически не меняет способность БД ингибировать связывание этого радиолиганда. Совместное добавление NaCl и ГАМК повышает почти в 4 раза связывание БД. Авторы объясняют это конформационными изменениями рецептора при взаимодействии с БД, β-карболинами, хлоридами и ГАМК.

Интересные данные о действии катионов приведены в работах [10, 44], описывающих влияние двухвалентного иона никеля, который повышает связывание производных БД и в равной мере снижает таковое β-карболинов.

Влияние барбитуратов на связывание β-карболинов изучалось в работах [10, 39, 58]. Выявлено неодинаковое влияние барбитуратов на связывание β-карболиновых и БД радиолигандов: отсутствие эффекта или незначительное влияние барбитуратов на связывание β-карболинов с БДР, тогда как у лигандов из числа БД в присутствии барбитуратов значительно повышается способность к связыванию с БДР. Указанное различие предлагается использовать как дополнительный тест («барбитуратный сдвиг») для предсказания фармакологической активности новых синтезированных производных. Имеются также работы о различном влиянии антигельминтного препарата Авермектина B_{A_1} на связывание с БДР БД и β-карболинов [10, 65].

Следующая группа работ по изучению взаимодействия БД и β-карболинов с БДР характеризуется использованием методов, приводящих к необратимым изменениям ГАМК-БД-Cl-ионофорного ансамбля. При изучении β-карболинов использовались: 1) специфический необратимый ингибитор БДР иразепин; 2) растворимые соли серебра, имеющие свойства необратимого связывания с белком хлорного канала; 3) УФ-облучение, приводящее к взаимной «пришивке» отдельных участков молекул рецептора и лиганда; 4) радиационная инактивация при воздействии ионизирующего излучения. Так, иразепин-1-(2′-изоцианоэтил)-7-хлор-5-(2′-фторфенил)-1,2-дигидро-3H-1,4-бендиазепин-2-он связывается неконкурентно, необратимо с БДР. При взаимодействии БДР с β-карболинами и иразепином эффекты ингибирования зависят от структуры производных β-карболинов. В процессе обработки синаптических мембран раствором нитрата

серебра [68—70] в качестве радиолигандов применялись ^{3}H-ZK 90798 и ^{3}H-флюнитразепам. При изучении связывания ткани мозга с ^{3}H-ZK 90 798 отмечены следующие особенности: 1) более высокая способность к связыванию проявляется в ткани коры и в гиппокампе (24—26 пмоль/г ткани), а также в подкорковых узлах, мозжечке и стволе мозга (13—15 пмоль/г ткани); 2) более выраженная по сравнению со связыванием БД зависимость от температуры инкубационной среды (разница в 3 раза при переходе от 0 к 37 °С); 3) добавление NaCl приводило к нарастанию связывания с БДР в 2,1 раза при 0 °С и в 4,1 раза — при 37 °С.

Предварительная (до инкубации с лигандом) обработка мембран раствором нитрата серебра вызывает многократное увеличение связывания ^{3}H-ZK 90 798: в 11 раз в отсутствие и в 7,7 раза в присутствии NaCl. При увеличении температуры от 0 до 37 °С этот эффект в присутствии NaCl практически исчезает. Описанный эффект предварительной обработки синаптических мембран ионами серебра уникален для связывания как БД, так и β-карболинов, поскольку ни связывание ^{3}H-флюнитразепама по показателю K_D, ни показатели его ингибирования по IC_{50}, включая вытеснение с помощью того же ZK 90798, практически не меняются. Таким образом, после обработки ионами серебра β-карболины выявляют иной рецепторный участок в Cl-ионофорном ансамбле, отличный от основного места связывания БД и β-карболинов, который, по данным авторов, представляет собой высокочувствительный металл-белковый участок связывания на одном из белков постсинаптической мембраны с $M = 94000$ (в отличие от 51 000 для связывания БД). По способности связывать лиганды с БДР этот вновь открытый участок связывания значительно отличается от ранее известных. По показателю IC_{50} способностью связывания с этим участком в наномолярных концентрациях обладают лишь немногие β-карболины: этил-β-карболин-3-карбоксилат (24 нМ); норгарман (30 нМ), а из бензодиазепинов — только мидазолам (25 пМ), имидазобензодиазепины U 39219 (220 пМ) и Ro 21—8384 (500 нМ). Все другие БД, в том числе наиболее активные — флюнитразепам, триазолам, клоназепам, связывались с показателями IC_{50} около 3 мкмоль. Бикукуллин и пикротоксинин ингибировали связывание ^{3}H-ZK 90798 в концентрации 0,31—500 мкМ.

Использование методики УФ-облучения СМ при изучении связывания БДР с нитразепамом, флюнитразепамом, клоназепамом [71, 72] получило широкое распространение и при изучении связывания β-карболинов [10, 29, 52, 73—75]. При этом выявилось меньшее влияние УФ-облучения на показатели связывания. Так в работе [29] число мест связывания B_m для ^{3}H-флюнитразепама после облучения снижалось в 13,5 раз, тогда как величина B_m для ^{3}H-этил-β-карболин-3-карбоксилата уменьшалась всего на 25 %.

Особенности связывания производных β-карболина с БДР в сопоставлении с показателями связывания других лигандов — агонистов, антагонистов и обратных агонистов БДР — использозались рядом авторов при составлении и обосновании гипотетических схем детального строения БДР, учета возможных их конформаций. Часть

этих схем является наглядной иллюстрацией логических рассуждений авторов и является поэтому, по существу, блок-схемами [41, 77, 78, 80, 82]. В других работах делается попытка создания топологических моделей, т. е. моделей, сохраняющих взаимное расположение и относительные размеры отдельных частей и деталей, входящих в БДР [24, 76, 79, 81, 83].

В части таких схем, основанных на влиянии ГАМК и хлоридов на связывание с БДР производных β-карболинов, выделяется несколько типов БДР. «Бензодиазепиновый» тип характеризуется влиянием на связывание лигандов как ГАМК, так и ионов хлора, «триазолопиридазиновый» тип — возрастанием связывания лигандов только при добавлении ГАМК, «β-карболиновый» тип — тем, что связывание нарастает только при добавлении хлоридов, добавление же ГАМК оказывает незначительное влияние. Один из типов БДР отличается отсутствием влияния на связывание как со стороны ГАМК, так и со стороны хлоридов (по этому типу взаимодействуют с БДР никотинамид и коразол).

Некоторые авторы обосновывают детализированные схемы строения супрамолекулярного ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля, основанные на признании нескольких специфических центров связывания [24, 79, 82], реагирующих преимущественно с теми или иными группами лигандов.

Различная конформация рецепторов при связывании с разными лигандами, по мнению многих авторов, обеспечивает либо тормозной эффект за счет усиления ГАМК-ергического торможения, либо эффект возбуждения за счет блокирующего действия на хлорный канал (подобный эффекту пикротоксина). При такой концепции неизбежно следует вывод о том, что многообразию эффектов соответствует множество тонких и дифференцированных конформационных изменений в белках единого супрамолекулярного комплекса. Это имеет существенное практическое значение для разработки путей направленного поиска новых, более эффективных и избирательно действующих фармакологических средств [23, 36, 37, 84—86].

В процессе изучения взаимодействия различных производных β-карболинов выявлена их способность в микромолярных концентрациях давать перекрестное связывание с другими рецепторами мозга: серотониновыми, дофаминовыми, опиатными, глициновыми, ГАМК, мускариновыми холинорецепторами, причем для каждого вида рецепторов внутри группы β-карболинов выявлены наиболее активные производные [3, 21, 31]. Так, из числа алкалоидов растительного происхождения наибольшее сродство к БДР имели гарман и норгарман (IC_{50} соответственно 7 и 8 мкМ), к опиатным рецепторам — гарман и гармин (2,8 и 7 мкМ), к мускариновым холинорецепторам — гармин (5 мкМ), к серотониновым — тетрагидроноргарман (4 мкМ), это же вещество давало наиболее низкий показатель IC_{50} для дофаминовых рецепторов (26 мкМ) [3]. Для глициновых рецепторов самыми активными оказались гарман и норгарман (IC_{50} соответственно 35 и 38 мкМ). По отношению к ГАМК-ергическим рецепторам: наиболее низкие показатели IC_{50} оказались у тетрагидроноргармана (153 мкМ) и гармана (168 мкМ) [21].

Представляет интерес наличие дифференцированных свойств связывания веществ группы гарманов с имипраминовыми рецепторами, имеющими отношение к серотонинергической и норадренергической медиаторным системам [84—86]. Наиболее выраженной способностью связывания с этими рецепторами обладал 6-метил-тетрагидроноргарман ($IC_{50} = 150$ мкМ).

Перекрестное реагирование отдельных производных β-карболинов с БДР и опиатными рецепторами выявлено также в работе [88].

6.3. Биохимические исследования β-карболинов

По вопросам об обмене веществ группы β-карболинов, растительных алкалоидов группы гармана, а также о связи обмена этих веществ с таковым других производных триптофана и индола имеется обширная литература. Большинство работ посвящено обмену производных дигидро- и тетрагидро-β-карболинов. Показана возможность синтеза этих веществ в процессе превращения триптофана, индола, серотонина, эндогенных галлюциногенов типа диметиламинотриптофана, диэтиламинотриптофана, 5-метокси-диметиламинотриптофана и др. В качестве одного из путей синтеза тетрагидро-β-карболинов указывается реакция конденсации продуктов ферментативного превращения индола, триптофана и серотонина с ацетальдегидом или формальдегидом в ткани мозга. При этом образуются производные тетрагидроногрармана или тетрагидрогармана, в том числе аналоги растительных алкалоидов. Доказано наличие производных дигидро-β-карболина и тетрагидро-β-карболина в моче и мозговой ткани [2, 3, 21—23, 35—38, 84—88, 92, 94—98]. В перечисленных работах речь идет о веществах, связанных преимущественно с обменом серотонина и активных в отношениях серотонинергической и катехоламинергической медиаций, влияющих на соответствующие ферментативные системы (МАО, КОМТ, тирозин-3-монооксигеназы и др.), а также участвующих в образовании меланинов. Поэтому подробное рассмотрение этих исследований выходит за рамки данной монографии, и мы ограничимся ссылками на упомянутые работы. Что касается производных β-карболинов, взаимодействующих с БДР в наномолярных или микромолярных концентрациях, то имеются лишь общие указания о возможности их образования путем окисления (ароматизации) из тетрагидро- и дигидро-β-карболинов [92, 93, 95] и отдельные работы по изучению условий такого превращения, обнаружению этих веществ в моче и структурах мозга человека или животных [96—98].

Вместе с тем описанное выше явление перекрестной активации синаптических рецепторов разной природы при повышении концентрации веществ, реагирующих преимущественно с одним типом рецептора, диктует необходимость рассмотрения возможности сложных процессов взаимовлияния нейронов с разной нейрохимической природой как основы очень тонкой регуляции деятельности мозга. Указанные механизмы могут лежать в основе патогенеза ряда психических заболеваний и психопатологических синдромов, механизма действия ряда психотропных препаратов (нейролептиков, антидепрессантов и др.), процессов гиперчувствительности и привыкания к ним и др.

Особый практический интерес представляет также проблема участия образующегося из этилового алкоголя и накапливающегося в организме ацетальдегида в синтезе дигидро- и тетрагидро-β-карболинов [22, 35, 96].

Весьма важным являются результаты, полученные в эксперименте на кошках [99] и свидетельствующие о возможности провокации тремора у животных на фоне внезапной отмены даваемого им алкоголя с помощью введения в этот период гармина или 5-гидрокси-триптофана (серотонина). Эти данные показывают пути раскрытия механизмов тремора в поздних стадиях алкоголизма.

Имеются также данные об участии β-карболинов в патогенезе некоторых неврологических синдромов: гармолина — в генезе мозжечкового тремора, возникающего в результате воздействия этого вещества на оливоцеребеллярную систему [99, 100]; метил-β-карболин-3-карбоксилата — в патогенетической терапии врожденных нарушений тонуса у крыс с генетическим дефектом [101]. В отношении участия различных медиаторных систем в описанных эффектах в последние годы приводятся все новые данные о преимущественной реализации влияния производных тетра-, дигидро-β-карболинов на серотонинергическую систему. Так, получены сведения об изменении выделения ^{14}C- и ^{3}H-серотонина и норадреналина [84, 102, 103]; проведены эксперименты с термокоагуляцией или нейротоксическим разрушением серотонинергических ядер шва и норадренергических ядер ствола [104], а также с применением в качестве агониста серотонина амида лизергиновой кислоты, в том числе ее меченного радиоактивного аналога [105].

Отдельно следует упомянуть о применении одной из биохимических методик в качестве теста, специфичного именно для изучения БДР. Речь идет о специфическом изменении уровня циклического гуанин-монофосфата (ЦГМФ) в ткани мозжечка при введении животным классических лигандов БДР. В отличие от упомянутых веществ производные β-карболинов (например, этил-β-карболин-3-карбоксилата) при введении животным не вызывали характерного снижения ЦГМФ в ткани мозжечка. При введении совместно с БД они значительно снижали или блокировали характерную реакцию ЦГМФ на БД [106]. В других работах показано некоторое повышение уровня ЦГМФ в ткани мозжечка под влиянием этил-β-карболин-3-карбоксилата и снятие обоих эффектов (как диазепама, так и этил-β-карболин-3-карбоксилата) с помощью антагониста БДР — Ro 15—1788 [107]. Заслуживают внимания полученные в последние годы данные об идентичности центров связывания имипрамина и некоторых β-карболинов с активным центром фермента ингибитора МАО-А [35, 85, 93].

6.4. Изучение фармакологических эффектов β-карболинов

Важным этапом в изучении поведенческих эффектов β-карболинов было использование методики их связывания БДР in vivo [34, 52, 61, 108—110]. Показано, что при предварительном парэнтеральном

введении этил-β-карболин-3-карбоксилата мышам и последующем введении ^{3}Н-флюнитразепама происходит неравномерное вытеснение радиоактивного лиганда в мозжечке и в гиппокампе, что соответствует различиям в связывании этил-β-карболин-3-карбоксилата с ЦБДР. В работе [61] отмечено, что производные β-карболинов, являющиеся прямыми агонистами БД по своему анксиолитическому действию (ZK 93423 и ZK 91296), укладываются в корреляционный график зависимости между эффективными дозами $ЭД_{50}$, рассчитанными по характеристикам связывания разных препаратов с БДР и поведенческих эффектов. Полное отсутствие такой зависимости наблюдается у производных β-карболина, являющихся полными или частичными антагонистами или обратными агонистами БДР: ZK 90798, FG-7142, ZK 90 886 и др.

Таким образом, для большой группы производных β-карболина величина специфического сродства к БДР, определяемая как in vivo, так и in vitro, не позволяет предсказать направленности эффекта. Как указано выше, такой прогноз невозможен также и на основании других приемов исследования in vitro (коэффициент отношения ГАМК, эффект фотосдвига и др.).

Учитывая большое практическое значение антагонистов БД как антидотов при передозировке, при необходимости экстренного прекращения действия БД-препаратов или «судорожных» β-карболинов, а также ввиду значительного теоретического интереса изучения механизма действия препаратов этой «пограничной области», в экспериментальной фармакологии β-карболинов разработан ряд утонченных методик исследования и проведен скрининг большого числа различных производных β-карболина, а также дигидро- и тетрагидро-β-карболина [23, 36, 37, 102, 103, 111].

Указанные приемы были классифицированы в определенные последовательные, стандартные процедуры и позволили изучать наличие у отдельных веществ свойств частичных агонистов или частичных обратных агонистов, свойств антагонистов, способности у отдельных веществ вызывать в зависимости от условий опыта и исходного состояния анксиогенный или анксиолитический эффект. Среди многочисленных работ, проведенных в указанном направлении [16, 52, 64, 110—119], следует выделить исследования, связанные с подробным анализом анксиогенного действия и некоторых производных β-карболина [110, 112—116]. В частности показано, что тонкое регулирование силы электрического тока, применяемого для «наказания», раздельный учет числа побежек и лизаний поилки, совместное применение двух веществ в различных соотношениях дают возможность определить степень проконфликтной активности отдельных β-карболинов: этил и метил-β-карболин-3-карбоксилата, ZK 90 798.

Другим методическим приемом изучения анксиогенных, проконфликтных и анксиолитических свойств β-карболинов является методика дифференцированного выбора [62]. Результаты эксперимента по данной методике позволяют отнести производные β-карболинов к одной из трех групп: агонистов, обратных агонистов и антагонистов. В работах [23, 36, 37, 102, 103, 111, 117—121] детально изучены анк-

сиолитические свойства гармана и большой группы его производных, а также некоторых производных дигидро- и тетрагидро-β-карболинов. Для ряда производных гармана, в том числе четырехциклических, выявлено преобладание либо анксиолитических, либо антидепрессантных свойств (по типу «атипичных» антидепрессантов), а у части — седативных свойств. Среди производных β-карболина детально изучен и введен в клиническую практику препарат инказан с выраженным антидепрессантным действием [84, 85]. Подробно исследовалась связь анксиолитического эффекта β-карболинов с возможностью его использования для предупреждения алкогольной зависимости у животных [36, 119—121].

В ряде работ показано, что один из наиболее активных обратных агонистов БДР — метил-β-карболин-3-карбоксилат, а также 3-гидроксиметил-β-карболин извращают седативное действие БД [14, 122]. Представляет интерес исследование, проведенное на кошках [123], с учетом наличия у этих животных парадоксальных реакций на БД в форме возбужденного состояния и гипосомнии вместо седации.

Заслуживает внимания влияние этил-β-карболин-3-карбоксилата на фазу глубокого сна, а также число и общую длительность эпизодов быстрого сна [123].

Наличие эпилептогенных свойств у ряда производных β-карболинов отмечено уже в первых публикациях об этих веществах [2, 11—16], в которых описаны эпилептогенные свойства метил-β-карболин-3-карбоксилата и гармана. При этом конвульсивное действие гармана сопоставлялось с конвульсивным эффектом коразола [2, 21, 23, 118, 124]; а величина $ЭД_{50}$ диазепама для предупреждения судорожного действия гармана соответствовала дозе диазепама для предупреждения пикротоксиновых судорог.

Из других видов судорог, вызванных введением конвульсантов, воздействие β-карболинов изучалось на моделях «пикротоксиновых» [46, 59] и «никотиновых» [45] судорог. Их потенцирование достигалось при введении метилового и в меньшей степени этилового эфиров β-карболин-3-карбоксилата. На модели «кофеиновых» судорог выявлено потенцирование их только при введении метил-β-карболин-3-карбоксилата [45]. «Изониазидовые» судороги значительно усиливались и возникали со значительно меньшим латентным периодом после введения конвульсанта у тех животных, которым предварительно в течение нескольких дней вводили метил-β-карболин-3-карбоксилат. При этом отмечено одновременно снижение связывания ^{3}Н-ГАМК- с ГАМК-рецепторами [127]. Указания об изменении ГАМК-связывания, а также о влиянии на «пикротоксиновые» судороги являются убедительными доказательствами воздействия β-карболинов через посредство ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля.

Направленность действия производных β-карболина дифференцировали также по их влиянию на «аудиогенные» судороги у чувствительных линий мышей ДВА/2 [52, 60]. В противоположность действию БД [128] ZK 90798, а также CGS 8216 облегчали возникновение «аудиогенных» судорог, а антагонисты Ro 15-1788 и ZK 93 426 задер-

13 7—2934

живали их развитие [52, 60]. При сопоставлении $ЭД_{50}$ перечисленных препаратов с величинами специфического ингибирования связывания ^3H-флюнитразепама in vivo корреляционной связи не установлено. Эти данные еще раз подтверждают отсутствие прямой зависимости величин специфического связывания и свойств β-карболинов. Представляют интерес данные о блокировании аудиогенных судорог некоторыми производными триптофана, 6-метокситетрагидро-β-карболином, а также веществами, участвующими в обмене триптамина (хлоримипрамин, паргилин), что указывает на значительные различия патогенеза отдельных типов судорог, используемых в качестве моделей. Блокирующее действие на «аудиогенные» судороги оказывали также некоторые производные тетрагидро-β-карболинов [129].

На модели тонических судорог, вызванных электрошоком, показано проконвульсивное действие метил-β-карболин-3-карбоксилата и ZK 90 798, в меньшей степени этил-β-карболин-3-карбоксилата, а также одного из антагонистов — CGS 8216. Другие антагонисты БДР (Ro 15—1788 и ZK 93 426) не оказывали эффекта на порог судорог [45, 52].

Особый интерес представляет изучение влияния β-карболинов на модели судорог у приматов — обезьян-бабуинов, среди которых имеются особи с повышенной чувствительностью к световым мельканиям. Эта модель, разработанная еще в 1975 г. [130], используется в двух вариантах: изучение влияния веществ на порог генерализованных судорог и их влияния на порог фотомиоклонических припадков, имеющих иной патогенез и характеризующихся специфическими изменениями картины электросубкортикограммы. У этих же обезьян создают также модель химического «киндлинга» путем повторного введения каиновой кислоты в образования лимбической системы — миндалину и гиппокамп. Перечисленные варианты эксперимента дают возможность моделировать либо эпилептический статус (при больших дозах каиновой кислоты), либо создавать модель очаговой височной эпилепсии (при меньших дозах каиновой кислоты), либо вызывать особый вариант фотомиоклонических припадков, высоко резистентных к лечению барбитуратами и БД. Последняя модель по клиническим проявлениям и терапевтической резистентности очень сходна с миоклоническими припадками при синдроме Леннокса — Гасто, наблюдаемому преимущественно в детском возрасте.

Проведенные на обезьянах эксперименты с использованием трех вариантов модели [15, 131] позволили подтвердить проконвульсивное действие этил-β-карболин-3-карбоксилата, в частности его способность реактивировать ранее созданные и утратившие активность очаги в лимбической области, уточнить особенности конвульсивного эффекта ZK 90 798, выявить избирательную лечебную активность в отношении фотомиоклонических припадков одного из новых производных β-карболинов ZK 91 296 с умеренно выраженными БД-подобными свойствами.

Представляет интерес также выявление сложных взаимоотношений между традиционными конвульсантами (тиосемикарбазид, стрихнин, коразол) и антидепрессантами, среди которых появились пре-

параты, являющиеся производными β-карболина (инказан, некоторые производные гармана) [85, 103, 131].

Данные, изложенные в настоящей главе, демонстрируют значительные отличия в нейрохимической и нейрофармакологической характеристике β-карболинов по сравнению с БД. В характеристике их рецепторного связывания следует подчеркнуть следующие особенности.

1. Отличия в показателях рецепторного связывания: более выраженные различия показателей связывания с двумя типами БДР β-карболинов; отсутствие у β-карболинов корреляционной зависимости между показателями связывания (K_D, K_i, IC_{50}) с БДР и фармакологическими эффектами ($ЭД_{50}$); невозможность, в отличие от БД, использования для предсказания направленности эффектов β-карболинов таких показателей, как коэффициент воздействия ГАМК, учет влияния барбитуратов и изменений показателей специфического связывания с БДР после фотоаффинного связывания ^3H-флюнитразепама. Перечисленные особенности послужили стимулом для поиска новых методических приемов экспериментального изучения эффектов β-карболинов.

2. Биохимическое изучение производных β-карболинов показало, что непосредственное отношение к проблемам БДР имеют узкая группа производных β-карболина-3-карбоксилата (алкильные, арильные эфиры и амиды) и их 6- или 7-производные.

3. Фармакологические свойства высокоаффинно связывающейся с БДР группы β-карболинов, многие представители которых обладают обратными по отношению к БД эффектами: конвульсивным, проконвульсивным, анксиогенным. Однако в этой группе есть вещества со свойствами антагонистов БД и слабых агонистов БД.

Указанные особенности расширяют возможности поиска новых эффективных лекарственных препаратов со свойствами специфических стимуляторов избирательного действия, транквилизаторов, антидепрессантов. Однако возможности взаимопревращений и влияния внутри широкой группы β-карболинов, производных дигидро- и тетрагидро-β-карболинов требуют многостороннего глубокого исследования фармакодинамики и фармакокинетики новых препаратов ввиду опасности получения пародоксальных, обратных эффектов, проявлений индивидуальной чувствительности к препарату в широких пределах, явлений привыкания и других не предсказуемых реакций.

1. *Braestrup C., Nielsen M., Olsen C. E.* Urinary and brain betacarbolin-3-carboxylates as potent inhibitors of brain benzodiazepine receptors // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1980.— 77, N 4.— P. 2288—2292.
2. *1-Methyl-β-carboline* (harmane) a potent endogenous inhibitor of benzodiazepine receptor binding / Rommelspracher H., Nanz C., Borbe H. O. et al. // Naunyn-Schmiedebergss Arch. Pharmacol.— 1980. —314, N 1.— P. 97—100.
3. *On the neuropharmacology* of harman and other β-carbolines / Müller W. E., Fehske K. J., Borbe H. O. et al. // Pharmacol. Biochem. Behav.— 1981.— 14, N 5.— P. 693—699.
4. *Nielsen M., Braestrup C.* Ethyl β-carboline-3-carboxylate shous differential benzodiazepine receptor interaction // Nature.—1980.—286, N 7.— P. 606—607.

5. *Nielsen M., Schou H., Braestrup C.* Propyl-^{3}H-β-carboline-3-carboxylate binds specifically to brain benzodiazepine receptors // J. Neurochem. — 1981.— 36, N 1.— P. 276—285.
6. *Braestrup C., Nielsen M.* GABA reduces binding of (^{3}H)-methyl-β-carboline-3-carboxylate to brain benzodiazepine receptors // Nature.— 1981. — 294, N 5840.— P. 472—474.
7. *Ehlert F. J., Roeske W. R., Yamamura H. J.* Multiple benzodiazepine receptors and their regulation by γ-aminobutyric acid // Life Sci.— 1981.— 29, N 3.— P. 236—248.
8. *Marangos P. J., Patel J.* Properties of (^{3}H)-β-carboxylate ethyl ester binding to the benzodiazepine receptor // Ibid.— N 16.— P. 1705—1714.
9. *Patel J., Marangos P. J., Goodwin F. K.* (^{3}H)-ethyl-β-carboline-3-carboxylate binding to the benzodiazepine receptor is not affected by GABA // Eur. J. Pharmacol.— 1981.— 72, N 4.— P. 419—420.
10. *Hirsch J. D., Kochman R. L., Samner P. R.* Heterogeneity of brain benzodiazepine receptors demonstrated by (^{3}H)-propyl-β-carboline-3-carboxylate binding // Mol. Pharmacol.— 1982.— 21, N 4.— P. 618—628.
11. *Tenen S. S., Hirsch J. D.* β-Carboline-3-carboxylic acid ether antagonizes diazepam activity // Nature.— 1980.— 288.— N 5792.— P. 609—610.
12. *Oakley N. R., Jones B. J.* The proconvulsant and diazepam-reversing effects of ethyl-β-carboline-3-carboxylate // Eur. J. Pharmacol.— 1980.— 68, N 3.— P. 381—382.
13. *Mitchell R., Martin I. L.* Ethyl β-carboline-3-carboxylate antagonizes the effect of diazepam on a fuctional GABA receptor // Ibid.— N 4.— P. 513—514.
14. *Ethyl* β-carboline-3-carboxylate lowers seizure threshold and antagonizes flurazepam-induced sedation rat / P. J. Cowen, A. R. Green, D. J. Nutt, I. L. Martin // Nature.— 1981.— 290, N 5806.— P. 54—55.
15. *Proconvulsant* effects in baboons of β-carboline, a putative endogenous ligand for benzodiazepine receptors // C. Cepeda, T. Tanaka, R. Besselievre et al. // Neurosci. Lett.— 1981.— 24, N 1.— P. 53—57.
16. *3-Hydroxymethyl-β-carboline* antagonizes some pharmacologic actions of diazepam / F. Skolnick, S. Paul, J. Crawly et al. // Eur. J. Pharmacol. —1981.— 69, N 4.— P. 525—527.
17. *Polc P., Ropert N., Wright D. M.* Ethyl-β-carboline-3-carboxylate antagonizes the action of GABA and benzodiazepines in the hippocampus // Brain Res.— 1981.— 217, N 1.— P. 216—220.
18. *Глушанков П. Г., Пляшкевич Ю. Г., Скребицкий В. Г., Демушкин В. П.* Действие производных β-карболина на вызванную активность нейронов гиппокампа // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1984.— 98, № 8.— С. 211—213.
19. *Глушанков П. Г., Воробьев В. С., Скребицкий В. Г.* Влияние производного β-карболина FG 7142 на торможение в срезах гиппокампа // Там же.— 1985.— 100, № 12.— С. 722—724.
20. *Antagonism of* benzodiazepine receptors by β-carbolines/ W. Brien, W. Schlosser, M. M. Spirt et al. // Life Sci.— 1981.—29, N 1.— P. 75—82.
21. *Benzodiazepine* antagonism by harmane and ether-β-carbolines in vitro and in vivo / H. Rommelspracher, Ch. Nanz, H. Borbe et al. // Eur. Pharmacol.— 1981.— 70, N 3.— P. 409—416.
22. *Rommelsprachеr H.* The β-carbolines (harmanes) — a new class endogenous compounds: Their relevance for the patagenesis and treatment of psychiatric and neurological diseases // Pharmacopsychiatria.— 1981.— 14, N 4.— P. 117—125.
23. *Комиссаров И. В., Долженко А. Т., Абрамец И. И.* Эндогенные модуляторы чувствительности постсинаптических мембран ГАМК-ергических синапсов мозга // Вестн. АМН СССР.— 1984.— № 11.— С. 26—31.
24. *Fujimoto M., Hirai K., Okabayashi T.* Comparation of the effects of GABA and chloride ion on the affinities of ligands for the benzodiazepine receptor // Life Sci.— 1982.— 30, N 1.— P. 51—57.
25. *Braestrup C., Nielsen M.* Multiple henzodiazepine receptors // Trends Neurosci.— 1980.— 3, N 3.— P. 302—303.
26. *β-Carboline-3-carboxylates* and benzodiazepines receptors / C. Braestrup,

M. Nielsen, H. Skovbjerg, O. Gredal // GABA and benzodiazepine receptors.— New York : Raven press, 1981.— P. 147—155.

27. *Braestrup C., Nielsen M.* (^{3}H)-propyl-β-carbolin-3-carboxylat as a selective radioligand for the benzodiazepine receptor (BZ_1) subclass // J. Neurochem. — 1981.— 37, N 2.— P. 333—341.
28. *Interactions* of β-carbolines with the benzodiazepine receptors: structure-activity relationships / H. A. Robertson, G. B. Baker, R. T. Coutts et al. // Eur. J. Pharmacol.— 1981.— 76, N 2/3.— P. 281—284.
29. *Karobath M., Supavilai P.* Distinction of benzodiazepine agonists from antagonists by photoaffinity labelling of benzodiazepine receptors in vitro // Neurosci. Lett.— 1982.— 31, N 1.— P. 65—69.
30. *Saano V., Airaksinen M. M.* Binding of β-carbolines and caffeine on benzodiazepine receptors : correlations to convulsions and tremor // Acta pharmacol. et toxicol.— 1982.— 51, N 4.— P. 300—308.
31. β-*Carboline* binding indicates the presence of benzodiazepine receptor subclasses in the bovine central nervous system / K. J. Fehske, J. Zube, H. O. Borbe et al. // Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharm.— 1982.— 319, N 2.— P. 172—177.
32. β-*Carbolines:* synthesis, neurochemical and pharmacologic actions on brain benzodiazepine receptors / M. Cain, F. Weber, F. Guzman et al. // J. Med. Chem.— 1982.— 25, N 9.— P. 1081—1091.
33. β-*Carbolines* as benzodiazepine receptor ligands. 1. Synthesis and benzodiazepine receptor interaction of esthers of β-carboline-3-carboxylic acid / K. P. Lillke, W. G. Schunack, W. Wenning, W. E. Müller // Ibid.— 1983. — 26, N 4.— P. 499—503.
34. β-*Carbolines* with agonistic and inverse agonistic properties at benzodiazepine receptors of the rat / D. N. Stephens, W. Kehr, H. H. Schneider, R. Schmiechen // Neurosci. Lett.— 1984.— 47, N 3.— P. 333—338.
35. *Кривченкова Р. С.* Современные достижения в биохимии тетрагидроизохинолинов и β-карболинов (триптолинов) // Вопр. мед. химии.— 1983.— 29, № 4.— С. 7—16.
36. *Жуков В. Н.* β-Карболины при алкоголизме // Фармакология экспериментального алкоголизма.— М. : Б. и., 1982.— С. 60—73.
37. *Буров Ю. В.* Фармакологические вещества для лечения алкоголизма: аналит. обзор и тенденции науч. поиска // Там же.— С. 7—27.
38. *Раевский К. С., Георгиев В. П.* Медиаторные аминокислоты: нейрофармакологические и нейрохимические аспекты.— М. ; София : Медицина и физкультура.— 1986.— 240 с.
39. *Binding* of (^{3}H)-ethyl-β-carboline-3-carboxylate to brain benzodiazepine receptors / E. F. Williams, S. M. Paul, K. C. Rice et al. // FEBS Lett.— 1981.— 132, N 2.— P. 269—272.
40. γ-*Aminobutyric* acid regulation of the benzodiazepine receptor: biochemical evidence for pharmacologically different affects of benzodiazepines and propyl-β-carboline-3-carboxylate // F. Ehlert, W. Roeske, C. Braestrup, S. Yamamura et al. // Eur. J. Pharmacol.— 1981.— 70, N 4.— P. 593—596.
41. *The benzodiazepine* receptor: complex binding properties and the influence of GABA / F. J. Ehlert, W. R. Roeske, S. Yamamura, H. Yamamura // Adv. Biochem. Psychopharmacol.— 1983.— 36.— P. 209—220.
42. *Gee K. W., Morelli M., Yamamura H.* The effect of temperature on CL-218.872 and prophyl-β-carboline-3-carboxylate in inhibition of (^{3}H)-flunitrazepam binding in rat brain // Biochem. and Biophys. Res. Communs.— 1982.— 105, N 4.— P. 1532—1537.
43. *Medina J. H., Novas M. L., De Robertis E.* Heterogeneity of benzodiazepine receptors: experimental differences between (^{3}H)-flunitrazepam and (^{3}H)-ethyl-β-carboline-3-carboxylate binding sites in rat brain membranes // J. Neurochem.— 1983.— 41, N 3.— P. 703—709.
44. *Squires R. F.* GABA receptors regulate the affinities of anions required for brain specific benzodiazepine binding // GABA and Benzodiazepine Receptors. Advances in Biochemical Psychopharmacology.— New York : Raven Press.— 1981.— Vol. 26.— P. 129—138.
45. *Oakley N. R., Jones B. J.* Differential pharmacological effects of β-carboline-3-carboxylic acid esthers // Neuropharmacology. — 1982.— 21, N 4.— P. 587—589.

46. *Braestrup C., Petersen E. N., Nielsen M.* Convulsive benzodiazepine receptor ligands // Psychopharmacol. Bull.— 1982.— 18, N 3.— P. 8—10.
47. *Interaction* of convulsive ligands with benzodiazepine receptors / C. Braestrup, R. Schmiechen, G. Neef et al. // Science.— 1982.— 216, N 4551.— P. 1241—1243.
48. *An in vitro* binding assay which differentiates benzodiazepine «agonists» and «antagonists» / P. Skolnick, M. M. Schweri, E. F. Williams et al. // Eur. J. Pharmacol.— 1982.— 78, N 1.— P. 133—136.
49. *Blokade* of 3-carbomethoxy-β-carboline induced seizures by diazepam and the benzodiazepine antagonists, Ro 15—1788 and CGS 8216 / M. Schweri, M. Cain, J. Cook et al. // Pharm. Biochem. and Behav.— 1982.— 17, N 3.— P. 457—460.
50. *Möhler H., Richards J. G.* Benzodiazepine receptor: interaction of a selective benzodiazepine antagonist Ro 15—1788 // Psychopharmacol. Bull.— 1982.— 18, N 3.— P. 10—12.
51. *Stapleton S. R., Prestwich S. A., Horton R. W.* Reginal heterogeneity of benzodiazepine-binding sites in rat brain // Eur. J. Pharmacol.— 1982.— 84, N 3/4.— P. 221—224.
52. *Evaluation* of the β-carboline ZK 93 426 as a benzodiazepine receptor antagonist / L. H. Jensen, E. N. Petersen, C. Braestrup et al. // Psychopharmacology.— 1984.— 83, N 3.— P. 249—256.
53. *Selective* antagonists of benzodiazepines / W. Hunkeler, H. Möhler, L. Pieri et al. // Nature.— 1981.— 290, N 5806.— P. 514—516.
54. *Möhler H., Richards J. G.* Agonist and antagonist of benzodiazepine receptor interaction in vitro // Ibid.— 294, N 5843.— P. 763—765.
55. *Benzodiazepine* antagonist Ro 15—1788; binding characteristics and interaction with drug-induced changes in dopamine turnower and cerebellar c-GMP levels / H. Möhler, W. D. Burrard, H. H. Keller et al. // J. Neurochem.— 1981.— 37, N 3.— P. 714—722.
56. *Squires R. F., Braestrup C.* Benzodiazepine receptors in rat brain // Nature.— 1977.— 266, N 5604.— P. 732—734.
57. *Benzodiazepine* receptors in brain / C. Braestrup, M. Nielsen, R. F. Squires, S. Laurberg // Acta psychiat. scand.— 1978.— 274, N 1.— P. 23—32.
58. *Honore T., Nielsen M., Braestrup C.* Barbiturate shift as a tool for determination of efficacy of benzodiazepine receptor ligands // Eur. J. Pharmacol.— 1984.— 100, N 1.— P. 101—108.
59. *Jensen L. H., Petersen E. N.* Bidirectional effects of benzodiazepine receptor ligands against picrotoxin and pentylenetetrazol-induced seizure // J. Neural Transm.— 1983.— 58, N 3/4.— P. 183—191.
60. *Jensen L. H., Petersen E. N., Braestrup C.* Audiogenic seizures in DBA/2 mice discriminante sensitively between low efficacy benzodiazepine receptor agonists and inverse agonists // Life Sci.— 1983.— 33, N 3.— P. 393—399.
61. *Bidirectional* effects on anxiety of β-carbolines acting as benzodiazepine receptor ligands / D. N. Stephens, W. Kehr, H. H. Schneider, C. Braestrup // Neuropharmacology.— 1984.— 23, N 78.— P. 879—880.
62. *Stephens D. N., Shearman G. T., Kehr W.* Discriminative stimulus properties of β-carbolines characterized as agonists and inverse agonists at central benzdiazepine receptor // Psychopharmacology.—1984.— 83, N 3.— P. 233—239.
63. *Characterization* of agonist, inverse agonist and partial agonist activities of β-carbolines in a drug-discrimination paradium (abstract) / D. N. Stephens, W. Kehr, H. H. Schneider, R. Schmiechen // Behav. Brain. Res.— 1984.— 12, N 2.—C. 233, 234.
64. *ZK 91296*, a partial agonist at benzodiazepine receptors / E. N. Petersen, L. H. Jensen, T. Honore et al. // Psychopharmacology.— 1984.— 83, N 3.— P. 240—248.
65. *Williams M., Risley E. A.* Interaction of avermectins with (^{3}H)-diazepam binding sites and (^{3}H)-β-carboline-2-carboxylate ethyl ester in rat brain cortical membranes // Eur. J. Pharmacol.— 1982.— 77, N 3.— P. 307—312.
66. *Irazepine*, a noncompetitive irreversible inhibitor of ^{3}H-diazepam binding to benzodiazepine receptors / K. C. Rice, A. Brossi, J.Tallman et al. // Nature.— 1979.— 278, N 5707.— P. 854—855.

67. *Inhibition* of (^{3}H)-diazepam and (^{3}H)-3-carboethoxy-β-carboline binding by irazepine: evidence for multiple «domains» of the benzodiazepine receptor / P. Skolnick, M. Schweri, E. Kutter et al. // J. Neurochem.— 1982.— 39, N 4.— P. 1142—1147.
68. *Braestrup C., Nielsen M., Honore T. I.* Binding of (^{3}H)-DMCM a convulsive benzodiazepine ligand to rat brain membranes. Prelimenary atudies // Ibid.— 1983.— **41**, N 2.— P. 454—465.
69. *Benzodiazepine* receptor ligands with negative efficacy. Chloride channel coupling / C. Braestrup, M. Nielsen, E. N. Petersen et al. // Benzodiazepine recognition site ligands: Biochemistry and pharmacology. Adv. Biochem. Pharmacol.— New York : Raven press, 1983.— Vol. 38.— P. 29—36.
70. *Honore T., Nielsen M., Braestrup C.* Specific ^{3}H-DMCM binding to a non-benzodiazepine binding site after silver ion treatment of rat brain membranes // Life Sci.— 1984.— **35**, N 22.— P. 2257—2267.
71. *Nielsen M., Braestrup C.* The molecular target seize of brain TBPS binding seites // Eur. J. Pharmacol.— 1983.— **96**, N 3/4.— P. 321—322.
72. *Möhler H., Battersby M. K., Richards J. G.* Benzodiazepine receptor protein identified and visualized in brain Tissue by a photoaffinity label // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1980.— **77**, N 3.— P. 1666—1670.
73. *Hirsch J. D.* Photolabeling of benzodiazepine receptors spares (^{3}H)-propyl-β-carboline binding // Pharm. Biochem. and Behav.— 1982.— **16**, N 2.— P. 245—248.
74. *Möhler H.* Benzodiazepine receptors: differential interaction of benzodiazepine agonists and antagonists after photoffinity labeling with flunitrazepam // Eur. J. Pharmacol.— 1982.— **80**, N 1.— P. 435—439.
75. *Photoaffinity* labeling of benzodiazepine receptors with a partial inverse agonist / H. Möhler, W. Sieghart, J. G. Richards, W. Hunkeler // Ibid.— 1984.— **102**, N 1.— P. 191—192.
76. *Braestrup C., Nielsen M.* Benzodiazepine receptors // Arzneimittel. —Forsch.— 1980.— **30**, N 5A.— P. 852—857.
77. *Olsen R. W., Leeb-Lundberg F.* Convulsant and anticonvulsant drug binding sires related to GABA-regulated chloride ion channels // GABA and benzodiazepine receptors: Adv. Biochem. Psychopharmacol.— New York : Raven press, 1981.— Vol. 26.— P. 93—102.
78. *Leeb-Lundberg L. M., Olsen R. W.* Heterogeneity of benzodiazepine receptor interactions with γ-aminobutyric acid and barbiturate receptor sites // Mol. Pharmacol.— 1983.— **23**, N 2.— P. 315—325.
79. *A three-state* model of benzodiazepine receptor explains the interactions between the benzodiazepine antagonist Ro 15—1788, benzodiazepine tranquilizers, β-carbolines and phenobarbitone / P. Polc, E. P. Bonetti, R. Schaffner, W. Haefely // Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol.— 1982.— 321, N 2.— P. 260—264.
80. *Niehoff D. L., Mashal R. D., Kuhar M.* Benzodiazepine receptors; preferential stimilation of type I receptors by pentobarbital // Eur. J. Pharmacol.—1983.— **92**, N 1/2.— P. 131—134.
81. *Корнеев А. Я., Мухин А. Г., Фактор М. И.* Молекулярные механизмы фармакологического действия бендиазепинов // Вестн. АМН СССР.— 1982.— № 1.— С. 20—27.
82. *Корнеев А. Я., Лидеман Г. Р.* Бензодиазепиновые рецепторы и постсинаптические ГАМК-рецепторы: свойства и взаимодействие // Успехи соврем. биологии.— 1985.— **100**, вып. 1 (4).— С. 51—67.
83. *GABA-Benzodiazepine* Interactions / E. Costa, M. G. Corda, B. Epstein et al. // The benzodiazepines: From Molecular biology to clinical practice / Ed. by E. Costa.— New York : Raven press, 1983.— P. 117—133.
84. *Машковский М. Д., Андреева Н. И., Полежаева А. И.* Фармакология антидепрессантов.— М. : Медицина, 1983.— 240 с.
85. *Связь* между структурой и активностью производных β-карболина. Молекулярная структура инказана / Г. Г. Дворянцева, С. В. Линдеман, Ю. Т. Стрючков и др. // Хим.-фармацевт. журн.— 1985.— 19, № 12.—С. 1424—1434.
86. *Бензодиазепины,* аффинность к рецепторам, их эндогенные лиганды, моделирование новых психотропных препаратов / Т. А. Воронина, С. А. Андро-

нати, Р. А. Ахундов, В. М. Чепелев // Вестн. АМН СССР.— 1984.— № 11.— С. 13—20.
87. *Структура*, фармакологические свойства и аффинность к бензодиазепиновым рецепторам 1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-онов и их циклических гомологов / С. А. Андронати, В. М. Чепелев, Т. А. Воронина и др. // Хим.-фармацевт. журн., 1985.— **19**, № 5.— С. 535—539.
88. *Роль* ГАМК-БД-рецепторного комплекса в реализации анксиолитического действия 3-оксипиридинов — новых транквилизаторов небензодиазепиновой структуры / Т. А. Воронина, Л. Д. Смирнова, У. М. Тилекеева, К. М. Домаев // Бюл. эксперим. биологии.— 1986.— **101**, № 5.— С. 571—572.
89. *Сергеев П. В., Шимановский Н. Л.* Фармакология бензодиазепиновых рецепторов // Фармакология и токсикология.— 1986.— № 4.— С. 108—114.
90. *Substituted* tetrahydro-β-carbolines are possible candidates as endogenous ligand of the (^{3}H)-imipramine recognition site / S. Z. Langer, R. Raisman, L. Tahraoui et al. // Eur. J. Pharmacol.— 1984.— **98**, N 1.— P. 153—154.
91. *Airaksinen M. M., Mikkonen E.* Affinity of β-carbolines on rat brain benzodiazepine and opiate receptors // Med. Biol.— 1980.— **58**, N 2.— P. 341—344.
92. *Airaksinen M. M., Kari T.* β-Carbolines, psychoactive compounds in the mammalian body. 1. Occurence, origin and metabolism // Ibid.— 1981.— **59**, N 1.— P. 21—34.
93. *Airaka inen M. M., Kari T.* β-Carbolines, psychoactive compounds in the mammalian body. II. Effects // Ibid.— P. 190—211.
94. *Jacobs B. L., Heym I., Rasmussen K.* Action of hallucinogenic drugs at post-synaptic serotonergic receptors // Psychopharmacol. Bull.— 1982. — **18**, N 3.— P. 168—172.
95. *Honecker H., Rommelspracher H.* Tetrahydronorharmane (tetrahydro-β-carboline), a physiologically occurring compound of indole metabolism // Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol.— 1978.— **305**, N 2.— P. 135—141.
96. *Rommelspracher H., Strauss S., Lindemann J.* Excretion of tetrahydroharmane and harmane into the urine of man and rat after a load with ethanol // FEBS Lett.— 1980.— **109**, N 2.— P. 209—212.
97. *Identification* of harman in the rat arcuate nucleus / D. W. Shoemaker, J. T. Cummins, T. G. Bidder et al. // Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol.— 1980.— **310**, N 3.— P. 227—230.
98. *Shoemaker D. W., Cummins J. T., Bidder T. G.* β-Carbolines in rat arcuate nucleus // Neurosci.— 1979.— **3**, N 2.— P. 233—237.
99. *Gothoni P.* Harmine-, LON-954- and 5-hydroxytryptophan induced tremors in rats withdrawn from ethanol // Acta pharmacol. et toxicol.— 1985. — **57**, N 1.— P. 40—46.
100. *Weiss M., Pellet J.* Modulation of harmaline-induced rhythmic discharge of the inferior olive by juxtafastiglal stimulation // Brain Res.— 1981.— **16**, N 1/2.— P. 364—368.
101. *Effects* of methyl-β-carboline-carboxylate, Ro 15—1788 and CGS-8216 on muscletone in genetically spastic rats // C. Ikonomidou, L. Turski, T. Klockgether et al. // Eur. J. Pharmacol.— 1985.— **113**, N 2.— P. 205—213.
102. *Долженко А. Т., Комиссаров И. В.* Изменения под влиянием длительного введения антидепрессантов импульсного высвобождения, но не обратного захвата биоаминов // Бюл. эксперим. биологии и медицины.—1986.— **101**, № 5.— С. 569—570.
103. *Абрамец И. И., Долженко А. Т.* Гарман и его производные как потенциальные атипичные антидепрессанты // Фармакология и токсикология.— 1986.— **49**, № 4.— С. 15—19.
104. *Pannier L., Rommelspracher H.* Actions of tetrahydronorharmane (tetrahydro-β-carboline) on 5-hydroxytryptamine and dopamine mediated mechanisms // Neuropharmacology.— 1981.— **20**, N 1.— P. 1—8.
105. *Behavioral* and biochemical evidence for serotonergic actions of tetrahydro-β-carbolines / E. B. Nielsen, F. I. White, A. H. Holohean et al. // Science.— 1982.— **31**, N 22.— P. 2433—2439.
106. *Ethyl-β-carboline-3-carboxylate* reverses the diazepam effect on cerebellar cyclic GMP / M. Fujimoto, K. Kawasaki, A. Matsushita, T. Okabayashi // Eur. J. Pharmacol.— 1982.— **80**, N 2/3.— P. 259—262.

107. *Koe K. B., Lebel L. A.* Contrasting effects of ethyl-β-carboline-3-carboxylate (βCCE) and diazepam on cerebellar cyclic GMP content and antagonism of both effects by Ro 15—1788. A specific benzodiazepine receptor blocker // Ibid.— 1983.— 91, N 1.— P. 97—102.
108. *Hirsch J. D., Lydigsen J. L.* Binding of β-carboline-3-carboxylic acid ethyl ether to mouse brain benzodiazepine receptors in vivo // Ibid.— 1981.— 72, N 4.— P. 357—360.
109. *Fehske K. J., Müller W. E.* β-Carboline inhibition of benzodiazepine receptor binding in vivo // Brain Res.— 1982.— 238, N 1.— P. 286—291.
110. *Does the reversal* of the anticonflict effect phenobarbital by β-CCE and FG-7142 indicate benzodiazepine receptor-mediated anxiogenic properties? E. N. Petersen, G. Paschelke, W. Kehr et al. // Eur. J. Pharmacol.— 1982.— 82, N 3/4.— P. 217—222.
111. *Пошивалов В. П.* Фармакоэтологический анализ действия некоторых β-карболинов // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1985.— 99, № 3.— С. 323—325.
112. *Differential* pharmacological effects of BZ receptor inverse agonists / E. N. Petersen, L. H. Jensen, T. Honore, C. Braestrup // Benzodiazepine recognition site ligands: Biochemistry and Pharmacology. Adv. Biochem. Pharmacol. — New York : Raven press.— 1983.— Vol. 38.— 360 p.
113. *Severe* anxiety induoced by FG-7142, a β-carboline ligand for benzodiazepine receptors / R. Dorow, R. Horowski, G. Paschelke et al. // Lancet.— 1983.— 11, N 1.— P. 98.
114. *Petersen E. N., Jensen L. H.* Proconflict effect of benzodiazepine receptor inverse agonists and other inhibitors of GABA function // Eur. J. Pharmacol.— 1984.— 103, N 1.— P. 91—93.
115. *Vellucci S. V., Webster R. A.* Antagonism of the anticonflict effect of chlordiazepoxide by β-carboline carboxylic acid ethyl ester, Ro 15— 1788 and ACTH$_{(4—10)}$ // Psychopharmacology.— 1982.— 78, N 3.— P. 256—260.
116. *β-Carbolines* enhance shock-induced suppression of drinking in rats / M. G. Corda, W. D. Blaker, W. B. Mendelson et al. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1983.— 80, N 7.— P. 2072—2076.
117. *Транквилизирующая* активность гармана и 3-метилгармана / А. Т. Долженко, В. И. Дуленко, Л. Я. Зиньковская, И. В. Комиссаров // Хим.-фармацевт. журн.— 1982.— 16, № 12.— С. 66—68.
118. *Зиньковская Л. Я., Долженко А. Т., Комиссаров И. В.* Изменение гарманом анксиолитического эффекта диазепама // Фармакология и токсикология.— 1985.— 48, № 2.— С. 21—23.
119. *Буров Ю. В., Орехов С. Н., Ведерникова Н. Н.* Анксиолитическая активность некоторых β-карболинов у крыс // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1985.— 99, № 4.— С. 453—455.
120. *Жуков В. Н., Орехов С. Н.* Транквилизирующие свойства некоторых соединений группы β-карболинов и их возможная роль в регуляции потребления алкоголя // Там же.— 1983.— 95, № 6.— С. 82—83.
121. *Буров Ю. В., Орехов С. Н., Ведерникова Н. Н.* Влияние соединений с анксиолитическими свойствами на добровольное потребление этанола у крыс // Там же.— 1986.— 101, № 4.— С. 442—443.
122. *A benzodiazepine* receptor antagonist decreases sleep and reverses the hypnotic actions of flurazepam / W. B. Mendelson, M. Cain, J. M. Cock et al. // Science.— 1983.— 219, N 4583.— P. 414—416.
123. *Hypnotic* action of ethyl-β-carboline-3-carboxylate a benzodiazepine receptor antagonist in cats / M. Kajima, L. DaCosta-Rochette, R. H. Dodd et al. // Electroencephalogr. and Clin. Neurophysiol.— 1984.— 58.— P. 277—281.
124. *Комиссаров И. В., Абрамец И. И.* Особенности ГАМК-потенцирующего действия гармана // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1982.— 94, № 10.— С. 61—63.
125. *Methyl-β-carboline-induced* convulsion are antagonized by Ro 15—1788 and by propyl-β-carboline / A. Valin, R. N. Dodd, D. R. Liston et al. // Eur. J. Pharmacol.— 1982.— 85, N 1.— P. 93—97.
126. *Petersen E. N.* DMCM: A potent convulsive benzodiazepine receptor ligand // Ibid.— 1983.— 94, N 1.— P. 117—124.

127. β-*Carbolines* enhance shock-induced suppression of drinking in rat / M. G. Corda, W. D. Blaker, W. B. Mendelson et al. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1983.— **80**, N 4.— P. 2072—2078.
128. *Robertson H. A*. Audiogenic seiezures: increased benzodiazepine receptor binding in a susceptible strain of mice // Eur. J. Pharmacol.— 1980.— **66**, N 2/3.— P. 249—252.
129. *Sparks D. L., Buckholtz N. S*. Effects of 6-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro- β-carboline (6-Meo-THBC) on audiogenic seizures in DBA/2Jmice // Pharmacol. Biochem. and Behav.— 1980.— **12**, N 1.— P. 119—124.
130. *Meldrum B. S., Horton R. W., Toseland P. A*. A primate model for testing anticonvulsant drugs // Arch. Neurol.— 1975.— **32**, N 2.— P. 289.
131. *Meldrum B. S., Evans M. C., Braestrup Cl*. Anticonvulsant action in the photosensitive baboon papio. On a novel β-carboline derivate ZK 91296 // Eur. J. Pharmacol.— 1983.— **91**, N 2/3.— P. 255—259.
132. *Головина С. М., Андреева Н. И*. Влияние антидепрессантов на судорожное действие тиосемикарбазида, стрихнина и коразола // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1986.— **102**, № 9.— С. 290—292.

Глава 7

МЕТОДЫ КОМПЛЕКСНОЙ ФАРМАКОТЕРАПИИ, ОСНОВАННЫЕ НА СВОЙСТВАХ ГАМК-БД-РЕЦЕПТОРНО-ИОНОФОРНОГО АНСАМБЛЯ И ЕГО УЧАСТИИ В МЕЖНЕЙРОНАЛЬНЫХ ВЗАИМООТНОШЕНИЯХ В РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛАХ МОЗГА

Психотропная активность БД в целом определяется анксиолитическим влиянием, действием на фиксированные переживания и эмоциональную напряженность, седативным, снотворным и противоэпилептическим влиянием (у части препаратов), антиобсессивным эффектом и воздействием на сенесто-ипохондрические (только у феназепама) и депрессивные проявления невротического уровня (в основном у феназепама и триазоламовых производных). Вторичными эффектами психотропного влияния БД являются устранение вегетативных нарушений как компонентов аффективных реакций, стимулирующее влияние и воздействие на повышенную истощаемость. К их побочным эффектам относятся миорелаксирующее действие и атаксические проявления [1—10].

Психотропное действие БД отмечается преимущественно у больных с пограничными нервно-психическими нарушениями. Под влиянием БД происходит редукция фобических, обсессивно-компульсивных, астенодепрессивных проявлений, повышенной раздражительности и идеаторного компонента непсихотических сенесто-ипохондрических расстройств. Эти эффекты возникают вследствие нормализации аффективных компонентов указанных синдромов, причем отмечается этапность психотропной активности БД: более сложные синдромы превращаются в простые. Снижение эмоциональной напряженности и насыщенности фиксированных психопатологических переживаний приводит к значительному седативному, а у некоторых препаратов и к активирующему влиянию, нормализации сна, уменьшению частоты и интенсивности болезненных сомнений, нерешительности, составляющих основу ананкастического синдрома, редукции сосудисто-вегетативных нарушений. Некоторые БД с наибольшей выраженностью основного психотропного влияния способны купировать синдромы психотического уровня.

Нейровегетотропная активность БД, относящаяся к их специфическим свойствам, проявляется в уменьшении чрезмерных вегетативно-соматических компонентов эмоциональных реакций. Эти компоненты следует рассматривать как результат общего повышения возбудимости, свойственной астеническому синдрому, а также подавления двигательных эмоциональных реакций [11, 12].

7.1. Краткие сведения о препаратах бенздиазепинового ряда

Препараты с преобладанием анксиолитического действия. Хлордиазепоксид [7-хлор-2-метиламино-5-фенил-3Н-1,4-бенздиазепина-4-оксидагидрохлорид; синонимы: либриум, хлозепид (СССР), элениум (ПНР), напотон (СРР), радепур (ГДР)] характеризуется относительно быстрой всасываемостью при пероральном применении. Пик концентрации в плазме крови наблюдается через 2—4 ч, период полураспада равен 6—28 ч. Однако действие препарата связано также и с образованием активных метаболитов (демоксепама и др.), которые имеют длительный период полураспада (около 100 ч), что приводит к увеличению продолжительности действия с возникновением устойчивого эффекта.

Преобладает общеуспокаивающая, облегчающая сон направленность действия. Достаточная активность хлордиазепоксида обеспечивает также его эффективность в лечении навязчивых, фобических и ипохондрических состояний. Вегетотропный эффект у хлордиазепоксида выражен не столь резко, как у диазепама, хотя он и оказывает определенное регулирующее влияние на вегетативные дисфункции и диэнцефальные нарушения.

Область клинического применения определяется невротическими, неврозоподобными, психопатическими и психопатоподобными состояниями в рамках различных нозологических форм, протекающих с преобладанием раздражительности, возбудимости, вспыльчивости. Препарат оказывает регулирующее действие при нарушениях сна. Применение его при психозах ограничено; в комплексе с нейролептиками он иногда применяется для снятия двигательного возбуждения, тревоги и навязчивостей.

В соматической практике препарат используется для лечения функциональных кардиалгий и нарушений сердечного ритма, устранения неврозогенного фактора при гипертонической и язвенной болезни, климактерических нарушениях, экземе и других кожных заболеваниях, сопровождающихся зудом, раздражительностью и т. д.

Диазепам [7-хлор-2,3-дигидро-1-метил-5-фенил-1Н-1,4-бенздиазепин-2-ОН; синонимы: валиум, сибазон (СССР), седуксен (ВНР), реланиум (ПНР), апаурин (СФРЮ) и др.] является основным типичным представителем БД, обладающим всем набором свойств препаратов этой группы: анксиолитическим, седативным в сочетании с хорошо выраженным активирующим компонентом, влиянием на эмоциональную лабильность, аффективные нарушения при фиксированных переживаниях, действием на навязчивости, противосудорожным и другими эффектами. По интенсивности редукции фиксированных переживаний и навязчивостей он значительно превосходит хлордиазепоксид.

Препарат достаточно быстро всасывается при пероральном применении (177—400 нг/мл) и достигает пика в плазме крови через 0,5—2 ч. Период его полувыведения равен 20—70 ч. Психотропное действие оказывает как неизменная молекула диазепама, так и его метаболиты (дезметилдиазепам, темазепам и др.). Среди них наиболее активным

является дезметилдиазепам. При применении диазепама концентрация этого метаболита выше, чем у хлордиазепоксида. Метаболит оксазепам так же, как и другие, оказывает дополнительное анксиолитическое действие.

Область клинического применения диазепама — психопатологические нарушения невротического уровня. Несмотря на отсутствие антипсихотических свойств, его успокаивающее действие, как и феназепама, в ряде случаев оказывается более результативным, чем нейролептиков с преобладающим седативным эффектом. Это касается тревоги, страха, возбуждения, напряженности, ипохондрии, навязчивостей и ряда других психопатологических феноменов у больных с пограничными состояниями. Способность диазепама регулировать вегетативные функции особенно отчетливо выступает в случаях, когда вегетативные нарушения тесно связаны с эмоциональными реакциями и являются ведущими в клинической картине (психогенно провоцируемые диэнцефальные и сходные с ними кризы, вазовегетативные нарушения лимбико-дистонического типа и др.).

Благодаря стимулирующему действию диазепам может применяться при невротических, психогенных и соматогенных депрессиях с астено-депрессивной, астеноипохондрической и другой невротической симптоматикой. Противосудорожная активность диазепама определяет его широкое применение в лечении судорожных проявлений, в основном при большой частоте припадков или их полиморфизме. Побочные эффекты (миорелаксация, атаксия) характерны для пожилых людей и больных с органическими поражениями головного мозга.

Бромазепам [7-бром-5-(2-пиридил)-1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепин-2-он; синонимы: лексилиум (СФРЮ), лексотанил, лексотан] по спектру действия сходен с диазепамом, но уступает ему по силе эффектов. Используется при невротических депрессиях, тревожно-депрессивных состояниях, обсессивно-фобических расстройствах, соматогенных неврозоподобных состояниях и бессоннице. Побочные действия и противопоказания те же, что и для диазепама. Препарат может сочетаться с нейролептиками, транквилизаторами иной химической структуры и антидепрессантами.

Лоразепам [7-хлор-5-(орто-хлорфенил)-2,3-дигидро-3-окси-1Н-1,4-бенздиазепин-2-он; синонимы: травор (СФРЮ), ативан, кальмалин, лоракс и др.] — препарат из группы БД, относительно недавно введенный в отечественную клиническую практику. Максимальный уровень препарата в плазме крови наблюдается через 1—6 ч после приема, а его период полураспада составляет около 12 ч. Особенности фармакокинетики определяют направленность действия и отсутствие эффекта кумуляции.

Лоразепам обладает выраженной транквилизирующей активностью. Показания те же, что у диазепама. Однако по сравнению с диазепамом он имеет более выраженный анксиолитический компонент действия, чем седативный. В некоторых исследованиях показано, что по гипнотическому влиянию лоразепам не уступает нитразепаму. Он обладает большей терапевтической широтой, чем диазепам, проявляющейся в том, что анксиолитическое влияние лоразепама допол-

няется отчетливым гипно-седативным эффектом лишь при существенном увеличении доз. Это свидетельствует о большем расслоении указанных видов действия у препарата.

Феназепам [7-бром-5 (орто-хлорфенил)-2,3-дигидро-1Н-1,4-бензодиазепин-2-он] синтезирован в ФХИ им. А. В. Богатского АН УССР, производится в СССР. Препарат быстро всасывается при пероральном применении. Пик концентрации в плазме крови наблюдается через 4 ч, период полувыведения равен 60 ч. В экспериментах на животных обнаружен фармакологически активный метаболит феназепама — 3-оксифеназепам. При применении феназепама у людей данный метаболит не найден даже в следовых количествах в течение 96 ч наблюдения. Феназепам, подобно диазепаму, является препаратом широкого спектра действия, обладающим всеми основными свойствами БД. Вместе с тем он значительно превосходит диазепам по силе эффектов. Высокая фармакологическая активность препарата расширяет спектр его действия, включающий синдромы психотического уровня при эндогенных психозах (сенесто-ипохондрического, депрессивно-параноидного, деперсонализационно-дереализационного и др.), особенно в случаях их вялого течения. Феназепам наиболее сильно воздействует на навязчивости, фобии, ипохондрические синдромы, наиболее резистентные к действию других транквилизаторов. Его анксиолитическое влияние не только превосходит действие других БД, но и вызывает более сильный седативный эффект по сравнению с некоторыми нейролептиками (тераленом, неулептилом и др.). По силе снотворного действия феназепам конкурирует с нитразепамом и даже превосходит его. Препарат оказывает значительно выраженное вегетостабилизирующее влияние и имеет противоэпилептическую активность.

Побочный миорелаксирующий эффект отмечается у больных с органической церебральной недостаточностью, может приводить к выраженной атонии и атаксии. В качестве корректора, уменьшающего или снимающего побочное действие феназепама и других производных БД, может быть использован сиднокарб. Вместе с тем феназепам может оказывать коррегирующее воздействие на побочные эффекты сочетанно используемых бутирофенонов, например, галоперидола.

Темазепам [7-хлор-1,3-дигидро-3-окси-1-метил-5-фенил-2Н-1,4-бензодиазепин-2-он; синоним: сигнопам (ПНР)] — препарат, обладающий менее выраженным действием по сравнению с диазепамом, хотя его клинический профиль и сходен со спектром последнего. Темазепам характеризуется сравнительно коротким периодом биологического полураспада, поэтому его действие гораздо короче и слабее, чем диазепама и хлордиазепоксида, но несколько сильнее, чем оксазепама. Пик концентрации в плазме крови (668—892 нг/мл) наблюдается через 0,8—1,4 ч, а период полураспада равен 7,3—8,3 ч. Этот препарат эффективен при лечении невротических расстройств, сопровождающихся тревогой и страхом. Он широко применяется при купировании тревоги перед хирургическим вмешательством, в процессе родов, при психосоматических нарушениях. Темазепам реду-

цирует невротические нарушения сна, и в этом отношении эффективнее хлордиазепоксида, нормализует продолжительность сна без выраженного влияния на процесс пробуждения и психомоторные навыки. Показана его достаточно высокая активность в отношении эмоциональных нарушений, в том числе у больных эпилепсией и при других органических поражениях головного мозга.

Оксазепам [7-хлор-2,3-дигидро-3-окси-5-фенил-1Н-1,4-бенздиазепин-2-ОН; синонимы : нозепам (СССР), тазепам (ПНР), адумбран (СФРЮ), сереста и др.] является одним из наиболее безопасных соединений БД, отличаясь низкой токсичностью. Пик концентрации в плазме крови наблюдается через 1—4 ч, вместе с тем период полураспада равен 4—13 ч. Фармакокинетика препарата в организме характеризуется отсутствием каких-либо активных метаболитов, и он выводится с мочой в форме глюкуронидов.

В психотропной активности оксазепама преобладает нерезко выраженное тормозное действие, в связи с чем препарат не вызывает интенсивной гиперседации и сомноленции, подобно мощным БД. Слабость общего транквилизирующего влияния и быстрое выведение коррелируют со слабыми миорелаксирующими свойствами и малой вегетотропной активностью. Это определяет круг преимущественных показаний к назначению оксазепама: незначительно выраженные невротические и неврозоподобные состояния с раздражительностью, повышенной утомляемостью и бессонницей. Мягкость действия препарата позволяет применять его у работающих пациентов, при лечении вторичных невротических расстройств и неврозоподобных состояний у больных с тяжелыми соматическими и неврологическими заболеваниями, а также у пожилых больных и детей.

Препараты с минимальным седативным или с преобладанием активирующего действия. Медазепам [7-хлор-2,3-дигидро-1-метил-5-фенил-1Н-1,4-бенздиазепин; синонимы: нобриум, мезапам (СССР), рудотель (ГДР) и др.] — производное БД, сравнительно недавно получившее широкое распространение. Препарат быстро всасывается при пероральном применении, пик концентрации в плазме крови наблюдается через 1—2 ч, период полураспада равен 1—2 ч. Как и другие БД, медазепам оказывает успокаивающее, анксиолитическое, миорелаксирующее и слабое противосудорожное влияние. Успокаивающее действие сочетается с активирующим, менее выраженным, чем у триоксазина. Общий транквилизирующий эффект сравним с действием хлордиазепоксида. Медазепам вызывает незначительную мышечную релаксацию. В отличие от других БД медазепам обычно не вызывает сонливости и снижения работоспособности и поэтому рассматривается как дневной транквилизатор. Эти особенности действия связаны не столько со структурой молекулы препарата, сколько с ее длительной трансформацией через ряд промежуточных метаболитов с низкой активностью до возникновения активного метаболита — дезметилдиазепама, что обеспечивает равномерный, постоянно проявляющийся эффект.

Тофизопам [1-(3,4-диметокси-фенил)-4-метил-5-этил-7,8-диметокси-5Н-2,3-бензодиазепин; синоним: грандаксин (ВНР)] синте-

зирован в Венгрии и представляет собой производное 2,3-бенздиазепина. Препарат не связывается непосредственно с БД-рецепторами, однако, подобно БД, значительно усиливает связывание ГАМК с соответствующими рецепторами.

Препарат быстро метаболизируется в организме с временем полураспада 6 ч. Он обладает транквилизирующей активностью, но не вызывает сонливости и миорелаксации. Тофизопам также не обладает противосудорожной активностью. Эти свойства делают его весьма ценным в качестве дневного транквилизатора. Клиническими показаниями к его применению являются неврозы и неврозоподобные состояния, сопровождающиеся напряжением, вегетативными расстройствами и умеренно выраженным страхом, а также синдром алкогольной абстиненции.

Препараты с преобладанием снотворного и противосудорожного действия. Нитразепам [7-нитро-5-фенил-2,3-дигидро-1Н-1,4-бенздиазепин-2-он; синонимы — эуноктин (ВНР), радедорм (ГДР), могадон (СФРЮ), нозепам (ПНР) и др.] является наиболее популярным снотворным препаратом из группы БД. Препарат легко всасывается при пероральном применении, его биодоступность составляет 78 %, пик концентрации в плазме крови наблюдается через 2 ч. В среднем период полувыведения препарата равен 18—31 ч, с возрастом больного он увеличивается и после 65 лет составляет около 40 час. В организме активных метаболитов не образуется.

В спектре психотропных свойств нитразепама на фоне мягкого транквилизирующего действия и слабости побочных эффектов на первый план выступает избирательное сильное снотворное действие, по которому он превосходит почти все остальные транквилизаторы. В отличие от снотворных средств из других групп нитразепам почти не нарушает структуру фаз сна. Его действие проявляется в основном в течение первых циклов ночного сна, т. е. не более 1,5—2,5 ч. Поэтому препарат наиболее показан при затруднениях засыпания и почти не эффективен в отношении утренних пробуждений с бессонницей и постсомнических расстройств. Другая особенность препарата состоит в более сильных по сравнению с другими транквилизаторами противоэпилептических свойствах с избирательным высокоспецифичным влиянием на пропульсивные и миоклонические припадки.

Основными клиническими показаниями для применения нитразепама являются различные диссомнические нарушения при неврозах и неврозоподобных состояниях. В комбинации с другими психотропными средствами препарат может использоваться при лечении шизофрении, МДП, для купирования абстинентного синдрома и др.

Клоназепам [7-нитро-2,3-дигидро-5-(орто-хлор) фенил-1Н-1,4-бенздиазепин-2-он; синонимы: антилепсин (ГДР), ривотрил и др.] — препарат из группы БД с выраженным противосудорожным действием, превышающим другие эффекты. Он быстро всасывается при пероральном применении, его биодоступность составляет 99 %, период полувыведения, равный 22—28 ч, увеличивается при курсовом применении. Время стабилизации уровня препарата в крови при курсовом применении составляет 6 дней.

Клоназепам, как и другие БД, обладает транквилизирующими, анксиолитическими, миорелаксантными и противосудорожными свойствами. Однако, благодаря большой выраженности противосудорожного эффекта, он нашел широкое применение в лечении эпилепсии. Наряду с этим имеются данные о его использовании при различных аффективных и диссомнических нарушениях, в сочетании с галоперидолом — при лечении синдрома Жиль де ля Туретта.

Сотрудниками кафедры психиатрии, детской и подростковой психиатрии факультета усовершенствования врачей Одесского медицинского института им. Н. И. Пирогова, Одесской областной клинической психиатрической больницы № 1 и Одесского областного психоневрологического диспансера в 1978—1986 гг. проводилось клиническое изучение применения БД, в том числе и как компонентов сочетанной терапии, при лечении различных типов течения шизофрении, невроза навязчивых движений, тикозных гиперкинезов различного генеза, эпилепсии у детей и подростков, а также алкоголизма и наркоманий с психическими нарушениями. Часть результатов проведенных исследований опубликована, остальные приводятся впервые.

В своей работе коллектив авторов исходил из возможности использования закономерностей потенцирования лекарственных средств за счет одновременного воздействия на различные участки ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля либо на компоненты этого ансамбля и ферментативные этапы синтеза и деградации ГАМК как медиатора процессов торможения, либо сочетанного воздействия на процессы межсистемного взаимодействия тормозных ГАМК-ергических нейронов с нейронами другой нейрохимической природы. Повышение эффективности ГАМК-ергического торможения способствует подавлению патологических систем.

7.2. Применение бенздиазепинов в комплексном лечении шизофрении

При лечении шизофрении используются не только нейролептики, но и их сочетание с другими препаратами, поскольку при разных вариантах течения и синдромальной структуры заболевания, а также на различных этапах заболевания необходим индивидуальный подбор лекарственных препаратов. Это определяет поиск как традиционных, так и нетрадиционных сочетаний [13]. В рамках этой тенденции в комплексной терапии шизофрении широко используются БД. Особое значение они имеют в комбинированном лечении малопрогредиентных ее форм, когда нейролептики часто вызывают ухудшение психического состояния и развитие выраженных побочных явлений [4]. При этом БД в первую очередь редуцируют психопатологические симптомы невротического и психопатического уровней, доминирующие в клинической картине данного типа течения: навязчивости, явления деперсонализации и дереализации, сенесто-ипохондрические расстройства, психопатоподобные проявления и связанные с ними несистематизированные идеи отношения, преследования [14, 15]; наблюдается коррекция аффективных и вегетативных расстройств

[16]. Некоторые авторы отмечают положительное действие БД не только на аффективный компонент психоза, но и на типичную продуктивную шизофреническую симптоматику: параноидную, кататоническую, гебефренную, а также на негативную при простой форме [17—18]. Описаны позитивные результаты с использованием двойного слепого контроля при лечении большими дозами БД злокачественных форм шизофрении [20, 21]. Синтез новых зарубежных и отечественных препаратов этого ряда позволил получить средства с большей психотропной активностью (лоразепам, феназепам), которые обладают наиболее общим антипсихотическим действием [22, 23]. Феназепам успешно применяется для лечения неврозоподобных и психопатоподобных расстройств при малопрогредиентной шизофрении, отмечен его положительный эффект при кататоническом синдроме [24]. При сложном параноидном синдроме с сенестопатическими нарушениями, наряду с исчезновением сенестопатий, снижалась интенсивность галлюцинаций и дезактуализировались бредовые идеи, чего не наблюдалось в случае применения эквивалентных доз седуксена [24]. Указанные свойства феназепама как наиболее мощного БД обусловили его включение в базисную комплексную терапию по Г. Н. Крыжановскому [25]. Препараты подбирали, исходя из известных звеньев патогенеза шизофрении.

Многочисленные данные свидетельствуют о том, что гиперактивация дофамин (ДА)-ергических систем мозга играет большую роль в механизмах психозов, в частности некоторых форм шизофрении [27—32]. Установлено, что гиперактивация ДА-ергической системы в хвостатом ядре или ядрах перегородки в значительной мере связана с нарушением ГАМК-ергического контроля. Следствием этого является угнетение функции холинергических нейронов хвостатого ядра и ядер перегородки, в норме существенно влияющих на подавление излишних движений и структуру мотиваций [27, 30—33]. Экспериментально показано, что применение нейролептиков, снижающих гиперактивность ДА-ергических структур, в сочетании с препаратами, усиливающими ГАМК-ергический контроль, подавляет стереотипное поведение у животных [25]. Наряду с описанным действием нейролептиков на ДА-рецепторы, выбор галоперидола обусловлен имеющимися сообщениями о его одновременном усиливающем действии на ГАМК-ергическое торможение [26] и экспериментальными данными о большей эффективности сочетания феназепама с галоперидолом, чем с трифтазином [34].

Препараты лития приводят к угнетению секреции ДА и угнетают образование новых ДА-рецепторов [25]. Влияние БД в составе комплекса препаратов может реализоваться за счет усиления ГАМК-ергического торможения в длинной петле обратной связи, которая контролирует активность ДА-ергических нейронов черной субстанции. Это приводит к ограничению тормозных импульсов ДА-ергических нейронов по отношению к холинергическим нейронам хвостатого ядра и ядер перегородки. Имеются также отдельные указания о возможной роли пресинаптического ГАМК-ергического торможения, усиливающегося при действии БД, в хвостатом ядре и ядрах пере-

городки [25, 27]. Однако эта точка зрения является дискуссионной [83].

Благодаря функциональному синергизму базисных препаратов, возникновению эффекта потенцирования за счет разных точек приложения во взаимосвязанных системах, возникает возможность достигать ту же терапевтическую эффективность при значительном уменьшении дозы каждого из них.

В последние годы большое значение в патологических процессах, в том числе и при шизофрении, придается усилению перекисного окисления липидов, которое вызывает повреждение липидных мембран с последующим повреждением белковых структур рецепторов, что играет большую роль в возникновении аутоиммунных процессов в мозговой ткани [35]. В связи с этим у части больных к вышеуказанному комплексу добавлялись альфа-токоферола ацетат (антиоксидант) и метаболические препараты (пиридоксальфосфат —ПАЛФ, никотинамид). ПАЛФ наряду с широким участием в качестве коэнзима многих ферментных систем, является коэнзимом глутаматдекарбоксилазы — ключевого фермента синтеза ГАМК.

Таблица 7.1. **Общая эффективность курсового лечения галоперидолом, феназепамом, литием, метаболическими препаратами при различных типах течения шизофрении**

Шизофрения	Число больных	Эффективность				
		0	1	2	3	4
Непрерывнотекущая						
Малопрогредиентная	60	1	4	10	25	20
с навязчивостями	19	—	—	2	8	9
с сенесто-ипохондрическими расстройствами	10	1	1	—	4	4
с явлениями деперсонализации и дереализации	6	—	—	1	3	2
с истериоформными расстройствами	7	—	—	2	4	1
бедная симптомами шизофрения	16	—	3	5	5	3
паранойяльная	2	—	—	—	11	1
Среднепрегредиентная	7	3	1	3	—	—
Интенсивнопрогредиентная	11	4	1	5	1	—
Шубообразная	61	4	10	7	31	9
среднепрогредиентная	59	2	10	7	3	9
интенсивнопрогредиентная	2	2	—	—	—	—
Периодическая	7	7	—	—	1	6
Конечные состояния	37	16	13	5	3	—
Итого	183	28	39	30	61	35

Примечания: 0 — отсутствие эффекта; 1 — незначительное, временное улучшение; 2 — отчетливое улучшение с необходимостью продолжать лечение; 3 — значительное улучшение с возможностью перехода на поддерживающую терапию; 4 — полное изчезновение наблюдавшихся симптомов.

Таблица 7.2. **Коэффициенты эффективности курсового лечения феназепамом, литием, галоперидолом и метаболическими препаратами по группам симптомов при различных типах течения и клинических вариантах шизофрении**

Группа симптомов	Шизофрения									
	периодическая	малопрогредиентная с навязчивостями	малопрогредиентная с сенесто-ипохондрическими расстройствами	малопрогредиентная с явлениями деперсонализации и дереализации	малопрогредиентная с истериоформными расстройствами	параноидальная	бедная симптомами	шубообразная	непрерывно-прогредиентная	конечные состояния
Неврозоподобные и психопатоподобные	0,969	0,824	0,729	0,820	0,924	0,719	0,755	0,907	0,587	0,698
Аффективные	0,916	0,949	0,784	0,909	0,928	0,952	0,862	0,876	0,499	0,291
Галлюцинаторно-параноидные	0,952	0,94	0,703	0,916	0,777	0,654	0,764	0,722	0,209	0,324
Кататонические	1,0	0,625	0,624	—	0,541	0,649	0,756	0,791	0,251	0,250
Дефицитарные	0,856	0,912	0,712	0,798	0,694	0,624	0,548	0,374	0,181	0,122
Суммарный коэффициент положительной эффективности	0,929	0,883	0,705	0,871	0,749	0,687	0,743	0,740	0,310	0,329

Наблюдались 183 больных шизофренией (137 мужчин и 46 женщин) в возрасте от 16 до 68 лет [39—42]. При диагностировании ее типов течения использовались критерии, разработанные для злокачественной и шубообразной [43], малопрогредиентной [44] и периодической шизофрении [45]. У 60 больных (32,8 %) имела место малопрогредиентная, у 61 (33,3 %) — шубообразная, у 18 (9,8 %) — непрерывнотекущая и у 7 (3,8 %) — периодическая шизофрения. В стадии конечного состояния находилось 37 больных (20,2 %). Формализация психического статуса проводилась на основании «Перечня стандартизованных психопатологических симптомов и синдромов» и карты оценки психического статуса больного, разработанных НИИ клинической психиатрии ВНЦ психического здоровья АМН СССР. Для определения эффективности комплексной терапии у больных использовалась алгебраически-матричная методика математической оценки, разработанная Э. Ф. Лаврецкой с соавторами [46] на модели эпилептической дисфории и позволяющая определить коэффициент положительной эффективности (*К*) применения психотропных препаратов и их комбинаций. Оценивалась общая эффективность терапии и ее влияние на шесть групп симптомов: неврозоподобные и психопатоподобные (54 признака), аффективные (40 признаков), галлюцинаторно-бредовые (51 признак): кататонические (19 признаков), дефицитарные симптомы (13 признаков) и нейровегетативные побочные явления (54 симптома). При конечных состояниях вследствие злокачественной шизофрении (37 больных) проводилось биохимическое исследование спинномозговой жидкости (СМЖ) для обоснования метаболической терапии ПАЛФ.

Поскольку ПАЛФ, по-видимому, плохо проникает через гематоэнцефалический барьер [47], применялась система оценки насыщения им нервной ткани по активности аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) в СМЖ, являющейся чувствительной к биохимическим тестам [48] *. Закономерности проявления АСТ- и АЛТ-активности в СМЖ больных изучались при наличии и в отсутствие 50 мкм ПАЛФ. За 2 недели до взятия СМЖ всякая терапия отменялась. Определения проводили в весенне-летний период года и в одно и то же время суток [53].

Применялись следующие дозы препаратов (мг/сут): галоперидола — 3—9; феназепама — 1,5—3, лития (карбоната, хлорида) — 900, ПАЛФ-120, никотинамида — 150, α-токоферола ацетата — 600. Все препараты давались после еды и назначались одновременно. Полученные результаты сведены в табл. 7.1 и 7.2.

Значительной эффективностью отличалась терапия у больных малопрогредиентной шизофренией. Отличительной ее особенностью являлось возникновение обострений на фоне вялого, непрерывного течения [44]. Для больных с клинической картиной латентного периода (2 чел.) были характерны неврозоподобные проявления с умеренно выраженными аффективными расстройствами в форме астено-депрессивных, обсессивно-фобических или гипотимических состояний, имевших характер аутохтонно возникавших фаз или при наличии психогенных моментов, приобретавших утрированно-парадоксальные черты. В активном периоде малопрогредиентной шизофрении психическое состояние больных определялось наличием сенесто-ипохондрических расстройств (10 чел.) или при отсутствии выраженной продуктивной симптоматики заметным усилением негативных симптомов («бедная

* В стандартном методе, рекомендованном МЗ СССР, АСТ- и АЛТ-активности определяются без введения ПАЛФ в инкубационную среду [49, 50], тогда как имеются указания на необходимость использования его как компонента этой среды, что повышает чувствительность теста [51]. Поэтому нами АСТ- и АЛТ-активности оценивались параллельно в присутствии и вне насыщающих концентраций ПАЛФ, что может быть использовано как чувствительный текст на B_6-витаминную обеспеченность организма [52].

Таблица 7.2. **Коэффициенты эффективности курсового лечения феназепамом, симптомов при различных типах течения и клинических вариантах шизофрении**

Группа симптомов	Шизо		
	периодическая	малопрогредиентная с навязчивостями	малопрогредиентная с сенесто-ипохондрическими расстройствами
Неврозоподобные и психопатоподобные	0,969	0,824	0,729
Аффективные	0,916	0,949	0,784
Галлюцинаторно-параноидные	0,952	0,94	0,703
Кататонические	1,0	0,625	0,624
Дефицитарные	0,856	0,912	0,712
Суммарный коэффициент положительной эффективности	0,929	0,883	0,705

Наблюдались 183 больных шизофренией (137 мужчин и 46 женщин) в возрасте от 16 до 68 лет [39—42]. При диагностировании ее типов течения использовались критерии, разработанные для злокачественной и шубообразной [43], малопрогредиентной [44] и периодической шизофрении [45]. У 60 больных (32,8 %) имела место малопрогредиентная, у 61 (33,3 %) — шубообразная, у 18 (9,8 %) — непрерывнотекущая и у 7 (3,8 %) — периодическая шизофрения. В стадии конечного состояния находилось 37 больных (20,2 %). Формализация психического статуса проводилась на основании «Перечня стандартизованных психопатологических симптомов и синдромов» и карты оценки психического статуса больного, разработанных НИИ клинической психиатрии ВНЦ психического здоровья АМН СССР. Для определения эффективности комплексной терапии у больных использовалась алгебраически-матричная методика математической оценки, разработанная Э. Ф. Лаврецкой с соавторами [46] на модели эпилептической дисфории и позволяющая определить коэффициент положительной эффективности (*K*) применения психотропных препаратов и их комбинаций. Оценивалась общая эффективность терапии и ее влияние на шесть групп симптомов: неврозоподобные и психопатоподобные (54 признака), аффективные (40 признаков), галлюцинаторно-бредовые (51 признак): кататонические (19 признаков), дефицитарные симптомы (13 признаков) и нейровегетативные побочные явления (54 симптома). При конечных состояниях вследствие злокачественной шизофрении (37 больных) проводилось биохимическое исследование спинномозговой жидкости (СМЖ) для обоснования метаболической терапии ПАЛФ.

Поскольку ПАЛФ, по-видимому, плохо проникает через гематоэнцефалический барьер [47], применялась система оценки насыщения им нервной ткани по активности аспартатаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) в СМЖ, являющейся чувствитель-

литием, галоперидолом и метаболическими препаратами по группам

френия						
малопрогредиентная с явлениями деперсонализации и дереализации	малопрогредиентная с истериоформными расстройствами	параноидальная	бедная симптомами	шубообразная	непрерывно-прогредиентная	конечные состояния
0,820	0,924	0,719	0,755	0,907	0,587	0,698
0,909	0,928	0,952	0,862	0,876	0,499	0,291
0,916	0,777	0,654	0,764	0,722	0,209	0,324
—	0,541	0,649	0,756	0,791	0,251	0,250
0,798	0,694	0,624	0,548	0,374	0,181	0,122
0,871	0,749	0,687	0,743	0,740	0,310	0,329

ной к биохимическим тестам [48] *. Закономерности проявления АСТ- и АЛТ-активности в СМЖ больных изучались при наличии и в отсутствие 50 мкм ПАЛФ. За 2 недели до взятия СМЖ всякая терапия отменялась. Определения проводили в весенне-летний период года и в одно и то же время суток [53].

Применялись следующие дозы препаратов (мг/сут): галоперидола — 3—9; феназепама — 1,5—3, лития (карбоната, хлорида) — 900, ПАЛФ-120, никотинамида — 150, α-токоферола ацетата — 600. Все препараты давались после еды и назначались одновременно. Полученные результаты сведены в табл. 7.1 и 7.2.

Значительной эффективностью отличалась терапия у больных малопрогредиентной шизофренией. Отличительной ее особенностью являлось возникновение обострений на фоне вялого, непрерывного течения [44]. Для больных с клинической картиной латентного периода (2 чел.) были характерны неврозоподобные проявления с умеренно выраженными аффективными расстройствами в форме астено-депрессивных, обсессивно-фобических или гипотимических состояний, имевших характер аутохтонно возникавших фаз или при наличии психогенных моментов, приобретавших утрированно-парадоксальные черты. В активном периоде малопрогредиентной шизофрении психическое состояние больных определялось наличием сенесто-ипохондрических расстройств (10 чел.) или при отсутствии выраженной продуктивной симптоматики заметным усилением негативных симптомов («бедная

* В стандартном методе, рекомендованном МЗ СССР, АСТ- и АЛТ-активности определяются без введения ПАЛФ в инкубационную среду [49, 50], тогда как имеются указания на необходимость использования его как компонента этой среды, что повышает чувствительность теста [51]. Поэтому нами АСТ- и АЛТ-активности оценивались параллельно в присутствии и вне насыщающих концентраций ПАЛФ, что может быть использовано как чувствительный текст на B_6-витаминную обеспеченность организма [52].

симптомами шизофрения» [44]) (16 чел.). У указанных 10 больных наблюдались проявления навязчивой ипохондрии с фиксацией на болезненных ощущениях и опасениями ипохондрического характера. Полиморфизм психопатологических расстройств выражался в присоединении сенестопатий, что указывало на прогредиентность в развитии процесса [54]. Фон настроения носил характер хронической субдепрессии, при этом навязчивости дополнялись компульсивными проявлениями, усложнявшими картину заболевания. У больных с благоприятными вариантами простой формы (4 чел.) медленное постепенное углубление негативных расстройств в активной стадии сопровождалось стойким астеническим синдромом, приводившим к социальной дезадаптации («астенический дефект» по Г. Хуберу).

В указанной группе больных у 55 из 60 (91,7 %) курсовое применение феназепама, лития, галоперидола и метаболической терапии приводило к уменьшению сенесто-ипохондрических нарушений, редукции вегетативных и диссомнических расстройств, исчезновению хронических депрессивных состояний. Особо следует отметить значительное снижение или полное исчезновение обсессий, фобий и компульсий. Лекарственный экстрапирамидный синдром практически отсутствовал. Наступление ремиссии отмечалось в течение 30—40 дней с последующим переходом на поддерживающую терапию меньшими дозами. Психофармакологическая редукция симптоматики зависела от полиморфизма проявлений малопрогредиентной шизофрении. При относительно мономорфных состояниях с преобладанием продуктивных расстройств (например, при доминировании навязчивостей) проводимая терапия была более эффективной ($K = 0{,}883$), чем при сложных психопатологических состояниях (например, при сенесто-ипохондрических нарушениях $K = 0{,}705$), преобладании ригидной паранойяльности ($K = 0{,}687$) или в случаях «бедной симптомами шизофрении» ($K = 0{,}743$). Клинический полиморфизм у ряда больных создавали не только психопатологические синдромы пограничного круга, но и расстройства более глубоких регистров — гипопараноические и микрокататонические, хотя и не доминировавшие в картине обострения, но хуже, чем первые, подвергавшиеся редукции. Эта же тенденция была характерна для дефицитарных нарушений. Катамнестическое наблюдение в течение 8 лет за такими больными показало отсутствие выраженного влияния данной методики лечения на прогредиентность болезни. У больных с сенесто-ипохондрическими нарушениями в последующем возникали обострения с нарастанием тенденции к фиксации, генерализации и полиморфизму указанных расстройств, появлением в ряде случаев признаков ригидной ипохондрии [55]. Вместе с тем у этих больных применение данной терапии давало возможность в течение длительного периода предотвращать обострения психического состояния или купировать его в амбулаторных условиях. Эта комбинация может быть вариантом выбора для стационарного и амбулаторного поддерживающего лечения в случаях постоянного контроля врачом принимаемых доз препаратов. В отличие от обычных схем поддерживающего лечения при такой терапии отсутст-

вуют лекарственный экстрапирамидный синдром и расстройства типа болезненной психической анестезии.

Столь же эффективным описанный способ лечения был при периодической шизофрении (7 больных) с характерной периодичностью клинических проявлений и возникновением четко очерченных приступов. В клинической картине существенное место занимали аффективные расстройства с незначительными изменениями личности. Аффективные приступы протекали по типу «клише». Их полиморфизм для каждого больного определялся присоединением бредовых, галлюцинаторных и псевдогаллюцинаторных проявлений. Динамике аффективных расстройств в ходе приступа была свойственна лабильность, проявлявшаяся как в своеобразной смене фаз от страха, тревоги с выраженными опасениями до состояний экстаза и блаженства (психозы «страха-счастья» по К. Леонгарду [56]), так и во внутрифазовых колебаниях. При депрессивно-параноидных приступах на фоне ажитированного беспокойства возникали бредовые идеи самоуничтожения, особого значения, а на высоте аффекта имели место явления бредовой дереализации и деперсонализации, у 2 больных формировался синдром Капгра с бредом двойника и метаморфозы, у 2 — развитие приступа достигало степени кататонических расстройств с нарушением сознания. Для этих случаев было характерно быстрое нарастание и постепенное снижение онейроидной спутанности сознания. В данной группе значительное улучшение отмечено у всех больных. Следует отметить, что в первые дни терапии седативный эффект сопровождался регулирующим влиянием на настроение: происходила нормализация как гипоманиальных, так и депрессивных состояний ($K = 0{,}916$). Под влиянием комплексной терапии исчезало чувство витальной тоски при депрессивно-бредовых состояниях, что свидетельствует о суммировании анксиолитического действия феназепама с антидепрессивным влиянием солей лития. Галоперидол же оказывал влияние на резидуальную симптоматику. При этом исчезали слуховые и псевдогаллюцинации, а в течение 3—4 недель подвергались редукции и бредовые переживания ($K = 0{,}952$).

Таким образом, курсовое лечение приводило к относительно быстрому обрыву продуктивной психопатологической симптоматики и формированию ремиссии. Катамнестическое наблюдение лиц этой группы показывает, что, не изменяя стереотипа течения заболевания, данный вариант терапии с равным успехом мог применяться и при последующих приступах рекуррентной шизофрении с целью их купирования.

Весьма эффективной была терапия у больных шизофренией с шубообразным типом течения. Клиническое своеобразие данной, самой многочисленной в нашем исследовании (61 чел.) группы больных определялось наличием острых психотических эпизодов с аффективно-паранойяльным, аффективно-параноидными, аффективно-парафренными или онейроидно-кататоническими нарушениями. Прогредиентность процесса у большинства больных — 59 чел. (96,7 %) — соответствовала среднепрогредиентному типу шубообразной шизофрении [57]. В случае применения комплексной терапии у большинства

больных на 3—4-й день отмечалась значительная редукция аффективного компонента бредового синдрома (страха, тревоги и др.), полностью устранялось двигательное беспокойство ($K = 0{,}876$). У 47 из 61 больных (77,1 %) при дальнейшем наблюдении бредово-галлюцинаторная и кататоническая симптоматика становилась менее интенсивной, а затем исчезала ($K = 0{,}722$ и $0{,}791$). Параллельно дезактуализации бредовых переживаний уменьшались другие нарушения мышления, явления амбивалентности. Применение комплексной терапии выводило больных из ступорозного состояния в течение 7—14 дней. Поведение больных приобретало понятный, осмысленный характер; ранее неуправляемых удавалось приспосабливать к трудовой деятельности в условиях больницы. У ряда пациентов возникали элементы критического отношения к болезни. На систематизированный фантастический бред на парафренном этапе развития заболевания терапия практически не воздействовала. В трех случаях, несмотря на возникновение гиперсомнии, улучшалось общее самочувствие, повышался тонус, облегчалась дальнейшая трудовая реабилитация.

При анализе курсового лечения и его результатов в целом установлено, что у подавляющего большинства больных отмечался выраженный непосредственный эффект в начале лечения, даже при значительно уменьшенных дозах галоперидола. В дальнейшем наблюдалось положительное воздействие на аффективно-параноидную симптоматику. В случаях кататонического возбуждения и аффективной ажитации применение препаратов в указанных дозах было неэффективным.

При катамнестическом исследовании больных с шубообразным течением болезни установлено, что данная терапия (при тех же дозах указанных препаратов) во время последующих приступов как аффективно-параноидных, так и онейроидно-кататонических, может оказаться менее эффективной, что, по-видимому, свидетельствует об отсутствии ее влияния на прогредиентность шубообразной шизофрении.

Особую группу составили больные непрерывно-прогредиентной и шубообразной шизофренией на этапе доминирования дефектной симптоматики в виде конечного состояния. Для них было характерным преобладание апатико-абулического дефекта («тупого слабоумия» по Э. Крепелину) с незначительно выраженной степенью продуктивных расстройств или их полным отсутствием — «психотическая стадия конечного этапа» и «стадия истинного исхода» [58]. В наших наблюдениях случаи апатического слабоумия у больных в чистом виде встречались редко (5 из 37). У большинства больных наблюдались, наряду с доминированием аффекта благодушия и безразличия, отсутствие «резонанса действительности» в их действиях (даже при сообщении о неблагоприятных домашних ситуациях), стремления к общению, выраженное снижение энергетического потенциала; больные все же были пассивно подчиняемы, у ряда из них отмечались экмнестические расстройства [58]. Вместе с тем у них периодически появлялись отдельные кататонические, галлюцинаторные или бредовые расстройства, что делало клиническую картину достаточно полиморфной: отмечались мутизм, манерность, соскальзывание, инкогерентность речевой продукции, неологизмы, бормотание («бормочу-

щая кататония» [59]), галлюцинаторно-бредовая симптоматика носила фрагментарный характер, наблюдались отрывочные явления психического автоматизма.

На фоне применения комплекса указанных препаратов 9 из 37 больных (24,3 %), до того недоступных словесному контакту, утративших даже навыки самообслуживания, стали вновь есть и ограниченно общаться с окружающими, самостоятельно принимали пищу и медикаменты, привлекались к выполнению несложных трудовых процессов. У остальных больных без заметного улучшения психического статуса в течение длительного срока лечения удавалось значительно уменьшить дозы психотропных средств, а у входивших в эту группу лиц с отмечавшейся ранее непереносимостью к нейролептикам уменьшение дозы препаратов устраняло нейролептический синдром. Результаты курсового лечения данной комбинацией препаратов при конечных состояниях злокачественной шизофрении, в частности галлюцинаторно-параноидных ($K = 0{,}324$) и кататонических расстройств ($K = 0{,}250$), подтверждают положение, высказанное еще Э. Крепелином [60], о редуцировании психотических расстройств на этой стадии заболевания и об усилении тенденции к их редукции при использовании психотропной терапии [43, 61].

Данные катамнестического наблюдения этой группы в течение 4 лет показывают, что при дефектных состояниях, особенно «в психотической стадии конечного состояния» [58], требовалось постоянное применение данной терапии, поскольку при ее отмене сразу же возникало ухудшение психического состояния. Формирование «поздних ремиссий» было отмечено только у 2 больных, причем проводившаяся терапия способствовала ресоциализации, восстановлению ограниченного круга общения, выполнению больными несложных заданий и обязанностей.

Среди побочных эффектов терапии у больных чаще всего отмечались зависимые от дозы сонливость, слабость, несосредоточенность внимания. Более постоянными при длительном применении препаратов были явления миорелаксации и атаксии, обнаруживавшиеся особенно рано у пожилых пациентов и в случаях развития процесса на органически измененной почве.

В качестве биохимического теста, отражающего эффект действия ПАЛФ, были изучены АЛТ- и АСТ-активности СМЖ [53]. На рис. 7.1 показаны результаты определения АСТ-активности в СМЖ у 32 больных с конечными состояниями, расположенные в порядке ее возрастания.

На горизонтальной оси буквами обозначены отдельные исследованные больные, на левой вертикальной оси — значения исходной АСТ-активности (мкмоль/(л · мин), на правой — ее степень при добавлении в среду инкубации 50 мкМ ПАЛФ. Нами установлена обратно пропорциональная зависимость между исходным уровнем АСТ-активности и степенью активирующего влияния ПАЛФ. Полученные данные можно трактовать с двух точек зрения. С одной стороны, реакция на добавленный ПАЛФ может отражать B_6-обеспеченность нервной ткани, тогда у больных, показанных в левой части гра-

фика, можно предположить ее недостаточность. С другой стороны, степень активации АСТ в СМЖ может в определенной степени отражать резерв функциональной способности аминотрансферазной системы в нервных клетках. С этой точки зрения можно полагать, что в левой части графика сосредоточены данные о больных с недостаточной напряженностью аминотрансферазных реакций и сохранением определенного функционального резерва АСТ в СМЖ. Более высокий уровень активности аминотрансфераз в СМЖ традиционно следует расценивать как проявление более интенсивной клеточной деструкции. Поэтому представляет интерес сопоставление клинических

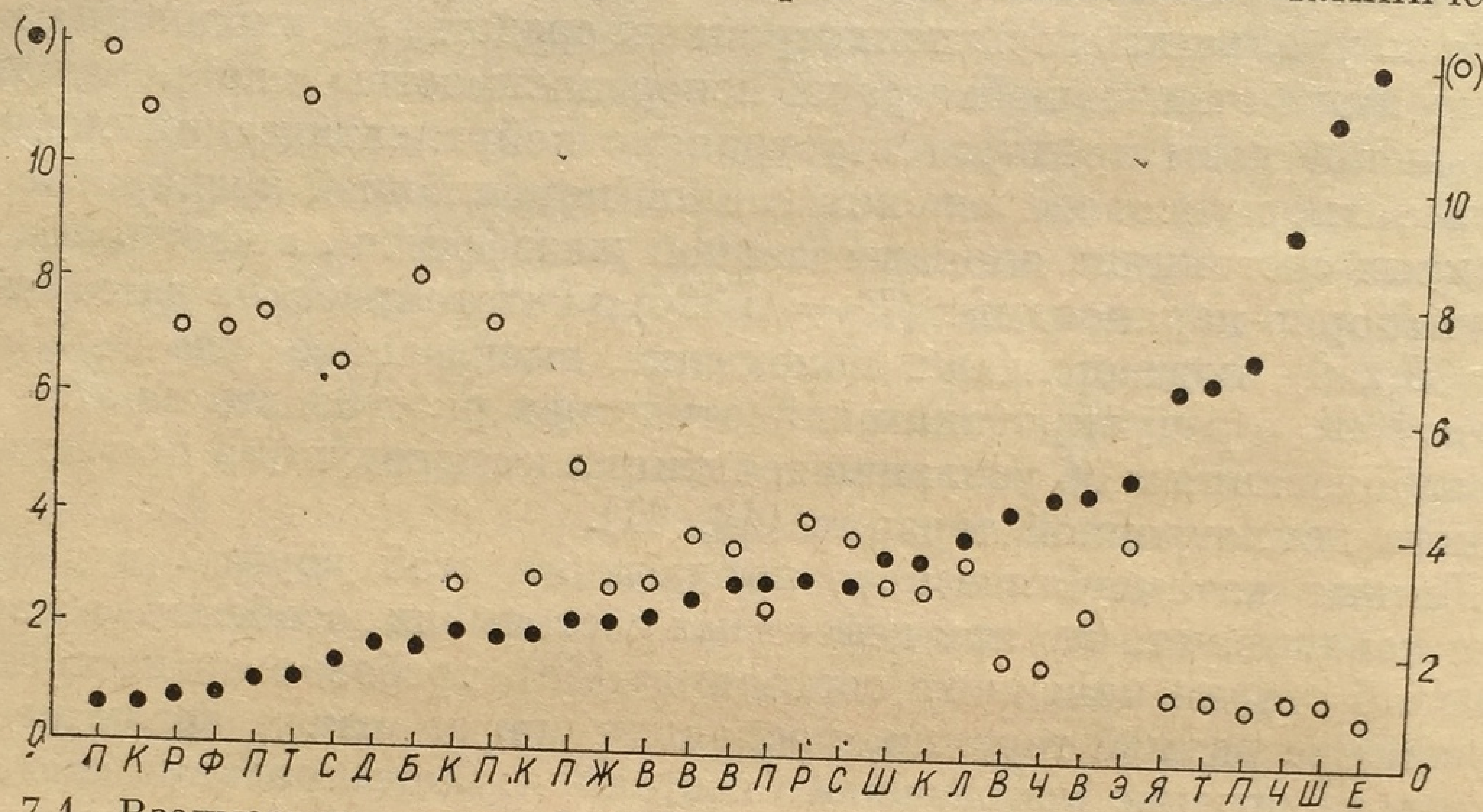


Рис. 7.1. Взаимосвязь исходной АСТ-активности СМЖ и активирующего влияния ПАЛФ у больных с конечными состояниями

проявлений шизофренического процесса с наблюдаемыми биохимическими различиями, а также сравнение характеристики АСТ- и АЛТ-активностей в этих условиях. Поэтому вся группа больных была разделена на подгруппы: с исходно-низкой АСТ-активностью (от 0,5 до 1,6 мкмоль/(л · мин)), средней (2,2—3,0 мкмоль/(л · мин)) и высокой (3,5—12,0 мкмоль/(л · мин)). Помимо описанного механизма, эффект введения ПАЛФ может зависеть от исходной обеспеченности организма больных витамином B_6.

Как видим из табл. 7.3, по мере увеличения исходной АСТ-активности учащалось выявление АЛТ-активности в СМЖ, которая в наших экспериментах отмечена исходно лишь в части случаев. Это еще раз свидетельствует о том, что повышение аминотрансферазной активности в СМЖ отражает процесс клеточной деструкции. Более того, нами выявлено, что при добавлении к СМЖ ПАЛФ АТЛ-активность обнаруживается в 100 % случаев. При этом максимальные АЛТ- и АСТ-активности увеличиваются от 1- к 3-й подгруппе.

При клинико-биохимическом сопоставлении не отмечено корреляции выявленных биохимических показателей с психопатологическими проявлениями конечных состояний. В то же время исходно низкие значения АСТ-активности коррелировали с более ранним началом шизофрении. Это позволяет предположить, что манифест эндогенного

Таблица 7.3. **Распределение больных с конечными состояниями при шизофрении по группам в зависимости от исходного уровня АСТ-активности; взаимосвязь с эффектом 50 мкМ ПАЛФ и проявлением АЛТ-активности**

Подгруппы больных	Исходная АСТ-активность, мкмоль/(л · мин)	Степень активации ПАЛФ	Максимальная АТС-активность, мкмоль/(л × × мин)	Процент обнаружения АЛТ-активности	Максимальная АЛТ-активность, мкмоль/(л · мин)
1-я подгруппа с исходно-низкой АСТ-активностью ($n = 12$)	1,228 (0,833—1,666)	7,62	9,357	7,7	5,881 (0,416—14,166)
2-я подгруппа с исходно-средней АСТ-активностью ($n = 7$)	2,702 (2,250—2,916) $p < 0{,}001$	3,41	9,213	14,3	6,249 (2,00—9,500)
3-я подгруппа с исходно-высокой АСТ-активностью ($n = 13$)	6,186 (3,583—11,750) $p < 0{,}001$	3,21	19,857	15,4	6,878 (3,583—14,916)

Примечание: p — сравнение с показателями 1-й подгруппы.

процесса в детском или подростковом возрасте определенным образом связан с B_6-недостаточностью и низкой функциональной активностью аминотрансфераз в ЦНС при сохранении значительного резерва их функции. Эти соображения подтверждают целесообразность терапии ПАЛФ у данной группы больных.

7.3. Особенности влияния сочетанного применения бенздиазепинов на синдром навязчивости при шизофрении

При комплексной терапии ряда форм шизофрении БД, галоперидолом и солями лития установлено, что весьма частой среди психотропных эффектов является редукция обсессивно-компульсивных проявлений [39, 40].

В связи с этим прицельно изучено влияние комплексного лечения феназепамом, литием, галоперидолом и метаболическими веществами на навязчивые состояния и сопутствовавшие им другие психопатологические синдромы пограничного круга (ПСПК) (аффективный, деперсонализационный дереализационный, сенесто-ипохондрический и астенический). В структуре шизофрении широко распространены малопрогредиентные формы с доминированием ПСПК (с явлениями навязчивостей, деперсонализации, дереализации, ипохондрии, сенестопатий). Последние нередко встречаются при шубообразной шизофрении, констеллируя с продуктивными психопатологическими синдромами более глубоких регистров (аффективно-параноидным, синдромом Кандинского — Клерамбо) [62, 63] и на определенных этапах развития шубов выступая на первый план. Фармакотерапия ПСПК

часто сопровождается большими трудностями. Это, в частности, касается стойких мономорфных синдромов: идеобессивного, деперсонализационного, сенестопатического и др. [64].

Под наблюдением находился 51 больной (4 женщины и 47 мужчин) в возрасте от 17 до 66 лет с малопрогредиентной и шубообразной шизофренией, в клинической картине которой отмечался синдром навязчивости при давности заболевания от 2 до 30 лет. Малопрогредиентная шизофрения диагностирована у 36 больных (70,5 %), при этом только с синдромом навязчивости — 19 больных (53,8 %), с навязчивостями и деперсонализационно-дереализационными расстройствами — 6 (16,7 %), а также с навязчивостями и сенестоипохондрическими нарушениями — 8 (22,2 %). Бедная симптомами шизофрения с рудиментарными навязчивостями выявлена у 3 больных (8,3 %). Среднепрогредиентный вариант шубообразной шизофрении с наличием в его психопатологической структуре, наряду с аффективно-параноидными проявлениями или синдромом Кандинского — Клерамбо, обсессивно-фобических расстройств диагностирован у 15 больных (29,4 %).

В структуре ПСПК при шизофрении выделены 42 основных симптома. Оценивались следующие проявления.

1. Синдром навязчивости (10 признаков): повышенная рефлексия, неуверенность в себе, тревожные опасения, навязчивые страхи, мысли, движения, действия, влечения, ритуалы, навязчивый бред и др.

2. Симптомы аффективного круга (15 признаков): угнетенность, эмоциональная лабильность, аффективная напряженность, чувство недовольства, тревога, страх, тоска, идеи собственной неполноценности, самоуничижения, идеи осуждения, пессимистическая оценка своего психического состояния, чувство беспомощности, суицидальные мысли и тенденции, моторная заторможенность, двигательное беспокойство, чувство физической тяжести в груди и других частях тела.

3. Симптомы деперсонализации и дереализации (4 признака): анестетическая деперсонализация, утрата психического «Я», утрата физического «Я», дереализация.

4. Симптомы сенесто-ипохондрических расстройств (3 признака): парестезии, сенестопатии, ипохондрия.

5. Симптомы астенического круга (10 признаков): чувство физической слабости, трудность концентрации внимания, сонливость днем, бессонница, сон с частыми пробуждениями, трудности засыпания, раннее пробуждение, наплыв мыслей перед сном, отсутствие чувства отдыха после сна, повышенная возбудимость, раздражительность.

Наиболее многочисленную клиническую группу составили больные малопрогредиентной шизофренией в активном периоде заболевания. В целом коэффициент положительной эффективности их курсового лечения составил $K = 0,773$ (табл. 7.4). При преобладании в психопатологической картине навязчивых проявлений клинический синдром относительно мономорфный, что определяет большую эффективность применения данной терапии в этих случаях ($K = 0,943$) (табл. 7.5) по сравнению с другими вариантами малопрогредиентной

Таблица 7.4. **Общая характеристика эффективности комбинации феназепама, галоперидола, лития и метаболических препаратов при малопрогредиентной и шубообразной шизофрении с навязчивостями**

Шизофрения	Число больных	Эффективность комбинации				
		0	1	2	3	4
Малопрогредиентная	36	—	2	4	12	18
с навязчивостями	19	—	—	1	7	11
с навязчивостями и сенесто-ипохондрическими расстройствами	8	—	1	—	2	5
с навязчивостями и деперсонализационными расстройствами	6	—	—	1	3	2
бедная симптомами шизофрения с рудиментарными навязчивостями	3	—	1	2	—	—
Шубообразная (среднепрогредиентная) с наличием в ее структуре навязчивостей	15	1	1	8	3	2

Примечание. Значения граф 0—4 те же, что в табл. 7.1.

Таблица 7.5. **Коэффициенты положительной активности курсового лечения феназепамом, галоперидолом, литием и метаболическими препаратами психопатологических синдромов пограничного круга при шизофрении**

Психопатологические синдромы пограничного круга	Шизофрения				
		малопрогредиентная ($K = 0{,}773$)			
	с навязчивостями	с навязчивостями и сенесто-ипохондрическими расстройствами	с навязчивостями и деперсонализационными расстройствами	бедная симптомами, с рудиментарными навязчивостями	шубообразная (среднепрогредиентная) с навязчивостями
Навязчивости	0,874	0,861	0,806	0,334	0,980
Аффективный	0,983	0,908	0,929	0,482	0,773
Деперсонализационно-дереализационный	—	—	0,805	0,167	0,583
Сенесто-ипохондрический	—	0,812	—	—	0,556
Астенический	0,973	0,917	0,908	0,667	0,856
Суммарный коэффициент положительной эффективности	0,943	0,874	0,862	0,413	0,642

шизофрении. У больных данной группы отмечались выраженные, преимущественно депрессивные или гипотимические аффективные расстройства и различные навязчивости: от повышенной рефлексии до ритуалов и навязчивого бреда. Чаще всего преобладали навязчивые страхи (агорафобии, страх смерти от удушья, инфаркта, канцерофобии, боязнь потерять важные документы и др.) и контрастирующие представления. Отличительными особенностями фобии и обсессий были их пароксизмальность, аффективная насыщенность и относительная мотивированность. У некоторых больных отмечался ком-

понент преодоления обсессивно-фобических нарушений. Как видно из табл. 7.5, у этих больных происходила почти полная редукция ПСПК, о чем свидетельствуют весьма высокие коэффициенты положительной активности (от $K = 0{,}983$ при аффективных расстройствах до $K = 0{,}874$ при навязчивостях).

Наряду с навязчивостями сенесто-ипохондрические расстройства отмечались у 8 больных ($K = 0{,}874$). Навязчивая ипохондрия проявлялась в виде ипохондрических опасений с фиксацией на болезненных ощущениях. Для сенестопатий отличительными особенностями были отсутствие локальности, диффузность ощущений, иногда они приобретали фантастический характер [54]. При длительном существовании таких сенестопатий возникали деперсонализационно-дереализационные расстройства. У этих больных также отмечалась достаточно высокая эффективность лечения: $K = 0{,}812$ для частных ПСПК, причем меньшей редукции подвергались сенесто-ипохондрические расстройства, обусловливавшие полиморфизацию клинической симптоматики.

У 6 больных клиническая картина осложнялась присоединением к навязчивостям симптомов деперсонализации и дереализации. Деперсонализация характеризовалась мучительным для больного чувством утраты собственного физического, психического «Я» или возможности сопереживания (анестетическая деперсонализация). Явления соматопсихической деперсонализации колебались, имели разную интенсивность, достигая наибольшей выраженности при снижении циклотимоподобных проявлений. У этих больных K составил 0,852. Что касается динамики ПСПК в этой подгруппе, то у больных, так же как и при шизофрении с навязчивостями, отмечалась довольно высокая степень редукции психопатологической симптоматики (от $K = 0{,}929$ при аффективных нарушениях до $K = 0{,}805$ при деперсонализационно-дереализационных расстройствах).

Клиническими особенностями бедной симптомами шизофрении (3 чел.), наряду с постепенным нарастанием негативной симптоматики, были стойкий астенический синдром, стертость аффективных проявлений, длительные монотонные идеообсессивные расстройства с утратой активного компонента преодоления навязчивостей, приближавшиеся по своим проявлениям к стереотипиям. Описанная симптоматика оказалась наиболее резистентной к психофармакологической коррекции. Значение K составило лишь 0,413, т. е. более чем в 2 раза меньше, чем при малопрогредиентной шизофрении с преобладанием навязчивостей. Психофармакологическая активность комплекса была недостаточной при выраженных симптомах соматопсихической деперсонализации и дереализации ($K = 0{,}167$), а также стойких навязчивых проявлениях, лишенных аффективной насыщенности ($K = 0{,}334$).

У больных шубообразной шизофренией навязчивости констеллировались с аффективно-параноидной симптоматикой, психическими автоматизмами и псевдогаллюцинациями. Особенности обсессивных проявлений в этих случаях заключались в навязчиво возникавших мыслях контрастного содержания и зрительных образах, проявление которых объяснялось больными воздействием «особой силы извне»,

а также навязчивых влечениях. Структурируясь, эти феномены формировали картину навязчивого бреда, трансформировавшегося при наплыве псевдогаллюцинаций или психических автоматизмов в параноидный бред. Величина K составила 0,642. Редукция симптоматики происходила одновременно: при коррекции навязчивостей дезактуализировались бредовые, исчезали галлюцинаторные и другие расстройства. В большей степени редуцировались астенические ($K = 0{,}856$) и аффективные ($K = 0{,}733$), в меньшей степени — навязчивые ($K = 0{,}480$) проявления. При сочетании навязчивостей с психо-

Таблица 7.6. **Коэффициенты положительной эффективности курсового лечения феназепамом, галоперидолом, литием и метаболическими препаратами различных проявлений синдрома навязчивостей**

Показатель	Проявления синдрома навязчивостей				
	Повышенная рефлексия	Неуверенность в себе	Тревожные опасения	Навязчивые страхи	Навязчивые мысли
Число больных	14	11	31	38	19
Коэффициенты положительной эффективности	0,905	0,909	0,817	0,684	0,685

Показатель	Проявления синдрома навязчивостей				
	Навязчивые движения и действия	Навязчивые влечения	Ритуалы	Навязчивый бред	Другие навязчивости
Число больных	7	9	2	16	3
Коэффициенты положительной эффективности	0,572	0,556	0,501 *	0,584	0,556*

Примечание. Звездочками (*) отмечены коэффициенты положительной эффективности, которые статистически достоверно не отличаются от коэффициентов, отражающих эффективность предшествующих методов лечения. В остальных случаях — $P < 0{,}01$.

патологически более тяжелым аффективно-параноидным синдромом их редукция обусловливается снижением интенсивности более глубоких психотических нарушений. Кроме того, в этих случаях чаще встречаются более тяжелые, малокурабельные виды навязчивостей, такие, как идеообсессивные расстройства, ритуалы и навязчивый бред. Характеризуя динамику симптомов у больных этой группы, следует отметить, что у 10 больных (66,7 %) наступало лишь относительное улучшение психического состояния под влиянием проводимого лечения (см. табл. 7.4). Сохранялись аффективно-нейтральные идеообсессивные и параноидные проявления.

Исходя из целей исследования изучены особенности психофармакологической редукции отдельных проявлений синдрома навязчивостей. Как следует из табл. 7.6, эффективность влияния комплекса была различной: от почти полного исчезновения таких симптомов,

как повышенная рефлексия, неуверенность в себе и тревожных опасений, до умеренного (меньшего почти в 2 раза) воздействия на более тяжелые симптомы навязчивости (компульсии, навязчивые идеи, ритуалы).

Приведенные данные позволяют сделать вывод о дифференцированном влиянии комплексного лечения феназепамом, галоперидолом, литием и метаболическими препаратами на синдром навязчивости и другие ПСПК при шизофрении. По мере утяжеления типа течения эндогенного (от малопрогредиентного к шубообразному) усложнения клинических вариантов вялотекущей шизофрении (от преобладавших аффективно насыщенных навязчивостей к бедной симптомами шизофрении со стойкими идеообсессивными расстройствами), а также утяжеления проявлений синдрома навязчивостей (от повышенной рефлексии к ритуалам и навязчивому бреду) эффективность комплексного лечения снижается.

7.4. Применение бензодиазепинов в комплексном лечении невроза навязчивых движений и тикозных гиперкинезов различного генеза у детей и подростков

Различные проявления навязчивых состояний: страхи, мысли, сомнения, воспоминания, опасения, представления, желания — могут наблюдаться у детей начиная со школьного возраста, однако наиболее распространенными являются навязчивые движения и действия [65—68]. Среди навязчивых движений одними из наиболее часто встречающихся в детском возрасте бывают тикоподобные [69, 70]. В литературе обсуждается генетическая связь тикозных гиперкинезов, наблюдаемых в дошкольном возрасте в чистом виде, с тикоподобными движениями, приобретающими у детей после 7—8 лет психопатологическую структуру навязчивых движений [71, 72]. В этих случаях, возникая еще в возрасте 3—4 лет, тикозные движения могут протекать длительно, с ремиссиями и обострениями вплоть до пубертатного периода, вначале как проявление мононевроза, а затем — составная часть невроза навязчивости. Тикозные гиперкинезы иногда наблюдаются и в структуре неврозоподобных состояний при текущих и резидуально-органических заболеваниях головного мозга [66, 67, 69].

Для лечения тикозных гиперкинезов в зависимости от нозологической принадлежности применяют транквилизаторы, общеукрепляющие и десенсибилизирующие препараты, физиотерапевтические методы [66, 68]. Введение в практику таких БД, как диазепам и феназепам, позволило повысить возможности фармакотерапии навязчивых движений, при которых лечение другими транквилизаторами было малоэффективно [1, 2, 4]. Однако необходимость длительного применения этих препаратов в высоких дозах может приводить к осложнениям (снижению мышечного тонуса, атаксии, нарушению памяти и др.). При затяжном и упорном течении заболевания ряд авторов рекомендуют включать в терапию нейролептики [68, 69]. Вместе с тем знание и учет патофизиологических механизмов заболе-

вания и действия препаратов дают возможность более полно и адекватно влиять на разные звенья патогенеза при сочетанном использовании фармакологических средств.

Исходя из положений теории генераторных механизмов нейропатологических синдромов Г. Н. Крыжановского [27] тикозные гиперкинезы и навязчивые действия можно рассматривать как проявления соответствующих патологических систем (ПС) в аппаратах коры больших полушарий и подкорковых узлах. Элементарные автоматизированные движения (мигания, подергивания мимической мускулатуры, подергивания головой и др.) при мононеврозе или при органических поражениях мозга (например, после нейроинфекции и др.) являются выражением деятельности относительно простых ПС. Такие же по формуле движения имеются в начальном периоде невроза навязчивости у детей младшего и школьного возраста. В дальнейшем они усложняются за счет появления идеаторного компонента — специфического переживания для навязчивости, отражающегося в словесном отчете. При прогрессировании патологического процесса у детей старшего возраста и подростков в клинической картине заболевания появляются сложные навязчивые действия, ритуалы, фобии, а также идеаторные навязчивости. Их формирование обусловлено развитием разветвленных многозвеньевых ПС или комплекса соответствующих простых ПС.

Анализ клинических особенностей невроза навязчивости у детей и подростков позволяет думать, что в сложную ПС (или в комплекс ПС) этих синдромов входят одновременно образования коры (с ними связаны тикоподобные гиперкинезы, сложные целенаправленные движения и действия, идеаторные навязчивости), базальных ганглиев, в частности ХЯ (обусловливающих элементарные гиперкинезы, стереотипии и др.), а также лимбической системы, с которыми связаны аффективные компоненты компульсий. Появление вегетативных нарушений свидетельствует о вовлечении в ПС гипоталамических образований. Таким образом, развитие в двигательной коре ПС, включающей генератор, патологически усиленного возбуждения по Крыжановскому Г. Н. [27], или очага инертного возбуждения по И. П. Павлову [73], — основа клинических проявлений тикозных и других навязчивых движений в структуре невроза навязчивости. При тикозных геперкинезах резидуально-органического генеза, отличающихся более монотонным течением, стереотипностью, отсутствием аффективного компонента, особое значение имеют изменения в ХЯ. В эксперименте установлено, что стереотипные и тикоподобные движения возникают при гиперактивности ДА-системы в ХЯ. Показано, что у детей при тикозных гиперкинезах имеется гиперактивность этих аппаратов [70, 74, 75]. Это ведет к снижению тормозных функций ХЯ, направленных на устранение лишних движений и более экономную организацию корковой произвольной моторики. Исходя из этого для их лечения использовались БД, активирующие ГАМК-ергическое торможение, соли лития, уменьшающие выброс ДА в межсинаптическую щель и предотвращающие образование новых рецепторов к ДА, и галоперидол — блокатор постсинаптической мембраны рецепторов к ДА.

15 7–2934

Под наблюдением находилось 148 детей и подростков в возрасте 3—18 лет [77, 78]. Тикозные гиперкинезы наблюдались в структуре невроза навязчивых состояний (54 чел.), в рамках мононевроза (10 чел.), резидуально-органических поражений (вследствие нейроинфекций, постнатальной черепно-мозговой травмы, природового поражения ЦНС и др.) (59 чел.), в результате перенесенного ревматизма и хронической тонзилогенной интоксикации (22 чел.) и в структуре синдрома Жиль де ла Туретта (3 чел.).

Клиническая картина гиперкинезов у детей при мононеврозе характеризовалась различными автоматизированными элементарными движениями (мигание, наморщивание лба, подергивание головой и плечами), а также респираторными гиперкинезами (покашливание, «хмыкание» и др.), которые возникали на основе того или иного защитного действия, первоначально имевшего целесообразный характер. Локализация тиков многократно менялась. В анамнезе во всех случаях отмечалась острая, подострая или затяжная психотравма.

В случаях невроза навязчивых состояний (24 больных) заболевание вначале имело такую же картину, как и у больных при мононеврозе. Однако в дальнейшем у них наблюдались частые рецидивы и несмотря на упорное лечение гиперкинезы не исчезали и становились более сложными. После 7—8 лет они, как правило, постепенно приобретали характер навязчивых действий со свойственной обсессивному неврозу психопатологической структурой переживаний. В более старшем возрасте (10—13 лет, 9 чел.) появлялись ритуалы разной сложности, присоединялись полиморфные идеаторные навязчивости (мысли, представления, счет, страхи и др.). У ряда больных неврозом навязчивости (13 чел.) при начале заболевания в 10—13 лет моторные и идеаторные навязчивости развивались одновременно. У большей части страдавших неврозом навязчивости отмечены повышенная истощаемость, эмоциональная неустойчивость, вегетативные и диссомнические нарушения.

В отличие от невротических тикозных гиперкинезов у большинства больных с тиками резидуально-органического генеза клиническая картина отличалась монотонностью и стереотипностью проявлений. При этом гиперкинезы не всегда носили отчетливый характер защитных действий, их не всегда удавалось подавить усилием воли, рецидивы были связаны в основном с переутомлением, чрезмерными физическими нагрузками или соматическими заболеваниями. Отсутствовал аффективный компонент, свойственный больным неврозом навязчивости. В качестве факультативных симптомов у этих больных наблюдались очаговая неврологическая симптоматика, диэнцефально-вегетативные нарушения, субкомпенсированная гидроцефалия, органические изменения на ЭЭГ, элементы психоорганического синдрома (церебрастенические, мнестические, брадифренические проявления), психомоторная расторможенность, реже — психопатоподобные нарушения.

В неактивной фазе нейроревматизма или при хронической тонзилогенной интоксикации (22 больных) тикозные гиперкинезы характеризовались монотонностью и локальностью. Они проявлялись частым

морганием, подергиванием мышц лица или плечевого пояса. Иногда гиперкинезы сочетались с отдельными хореиформными движениями. Для них было характерно длительное и упорное течение. Довольно часто у лиц, перенесших нейроревматизм, наблюдались респираторные тики в виде покашливаний, «хмыканий», «похрюкиваний», которые были резистентными к ранее проводимой терапии. При хронической тонзилогенной интоксикации респираторных тиков не наблюдалось. Различной степени выраженности церебрастенические симптомы в сочетании с диэнцефально-вегетативными нарушениями наблюдались при тиках в основном у больных, перенесших нейроревматизм, и реже у лиц с хронической тонзилогенной интоксикацией. Снижение мышечного тонуса было более постоянным у описываемых больных, чем в других исследованных группах.

Клиническая картина синдрома Жиль де ла Туретта характеризовалась генерализованными гиперкинезами в сочетании с копролалией, переживаниями контрастного содержания (2 чел.) или девиантным поведением (1 чел.). При этом в начале заболевания отмечались различные тикозные гиперкинезы лицевой мускулатуры с постепенным вовлечением в процесс мышц плечевого пояса и туловища, через несколько лет появлялась копролалия, сопровождавшаяся контрастными переживаниями или девиантным поведением.

Все больные ранее безуспешно лечились различными седативными препаратами (транквилизаторами), иногда галоперидолом и финлепсином без желаемого результата, что указывает на резистентность и склонность к рецидивированию навязчивых движений и гиперкинезов у данной группы детей и подростков.

Лечение больных с применением БД, солей лития и галоперидола проводилось в стационарных и амбулаторных условиях. Вначале назначались БД и карбонат лития, а через 3—7 дней в схему лечения включался галоперидол в каплях. Больные нейроревматизмом переводились на эту схему лечения после затухания активности ревматического процесса. Из 149 больных 124 получали феназепам, 25 — диазепам. Последний назначали детям младшего возраста в связи с тем, что применение феназепама приводило к значительной мышечной гипотонии, атаксии, сонливости и вялости. Доза БД составляла $^1/_3$ — $^1/_2$ часть от общепринятых возрастных доз [64, 65]. Карбонат лития больные получали в дозе от 75 до 150 мг 3 раза в день, т. е. 225—450 мг/сут в зависимости от возраста. Доза галоперидола была индивидуальной и колебалась от 2—3 до 10 капель 3 раза в день, т. е. от 0,6 до 3 мг/сут. Дозу галоперидола повышали постепенно, по 1 капле на прием 1 раз в 3—4 дня под контролем состояния мышечного тонуса. У отдельных больных, если отсутствовал эффект от высоких доз галоперидола (1,5—3 мг/сут), увеличивали дозу феназепама, а у детей младшего возраста заменяли диазепам на феназепам. Но и в этих случаях дозы препарата не превышали $^3/_4$ средневозрастных доз. Следует отметить, что и при более высоких дозах галоперидола не требовалось применения корректоров из группы центральных холинолитиков. После исчезновения гиперкинезов больные еще 7—14 дней продолжали получать указанную комбинацию в той дозе, при кото-

рой был достигнут эффект, а затем дозы препаратов снижались в последовательности, обратной той, по которой проводилось их увеличение при лечении, до полной отмены.

В процессе лечения у больных постепенно уменьшались амплитуда и частота навязчивых движений и гиперкинезов, из генерализованных они становились локальными, а затем исчезали. Наиболее длительными были тикозные гиперкинезы в виде частого моргания и покашливания. Вместе с редукцией навязчивых движений и гиперкинезов больные становились спокойнее и уравновешеннее, нормализовался сон, сглаживались вегетативные проявления. У 22 больных с неврозом навязчивых состояний в структуру заболевания, кроме двигательных навязчивостей, входили навязчивые мысли, страхи, ритуалы. В процессе лечения у них постепенно уменьшались напряженность аффекта, тревожная мнительность, актуальность переживаний. При этом навязчивые движения и действия лучше редуцировались, чем идеаторные (табл. 7.7). Полного исчезновения идеаторных навязчивостей удалось достичь лишь в половине случаев. У больных с тикозными гиперкинезами резидуально- органического генеза значительно уменьшалась психомоторная расторможенность, а при синдроме Жиль де ля Туратта — копролалия и контрастные переживания, нормализовалось поведение.

Таблица 7.7. **Эффективность применения БД, карбоната лития и галоперидола при лечении тикозных гиперкинезов различного происхождения**

Неврологическая принадлежность гиперкинезов	Число больных	Эффективность терапии				
		0	+	++	+++	++++
Динамика тикозных гиперкинезов и навязчивых движений						
Тикозные гиперкинезы в структуре невроза навязчивых состояний	54	0	4	8	21	21
Тикозные гиперкинезы как проявление мононевроза	10	0	0	1	5	4
Тикозные гиперкинезы резидуально-органического генеза	59	0	3	13	18	25
Тикозные гиперкинезы в неактивной фазе нейроревматизма и вследствие тонзилогенной интоксикации	22	0	1	7	6	8
Синдром Жиль де ля Туретта	3	0	0	1	2	0
Всего	148	0	8	30	52	58
Динамика других проявлений у больных с неврозом навязчивых состояний						
Навязчивые страхи	9	0	0	2	3	4
Навязчивые мысли	4	0	1	1	1	1
Ритуалы	9	0	1	2	4	2

Примечание: 0 — отсутствие эффекта; + — незначительное улучшение; ++ — отчетливое улучшение в сочетании с уменьшением факультативной симптоматики, +++ — значительное улучшение с выраженным уменьшением факультативной симптоматики; ++++ — полное исчезновение основной и факультативной симптоматики.

Из побочных эффектов терапии следует отметить у части детей сонливость в первые дни приема феназепама, которая исчезала самостоя-

тельно через 3—5 дней, либо изредка приводила к необходимости перевода на медазепам. При гиперкинезах резидуально-органического генеза у 13 детей наблюдалась выраженная мышечная гипотония, исчезнувшая после уменьшения дозы феназепама. У 2 больных вследствие углубления сна при приеме феназепама появился ночной энурез, поэтому доза препарата была уменьшена.

Длительность лечения в основном составляла 4—6 недель. К концу терапии практическое выздоровление отмечалось у 58 чел., значительное улучшение — у 52, отчетливое улучшение — у 14, незначительное улучшение — у 8. Лиц с отсутствием непосредственного эффекта от курсового лечения не было (см. табл. 7.7).

Прослежен катамнез у 30 больных от 4 месяцев до 1,5 лет после окончания терапии. Были здоровыми и не нуждались в лечении 9 детей. У 21 чел. после отмены препаратов признаков заболевания не наблюдалось. Однако в дальнейшем в связи с повторно возникшими психотравмирующими ситуациями в школе и семье (у 13 больных) или в результате перенесенных инфекционных заболеваний, обострения хронического тонзиллита, чрезмерных физических нагрузок (у 8 чел.) возникли рецидивы. Длительность ремиссий колебалась от 1 месяца до полутора лет.

Следует выделить группу детей (3 чел.— с тикозными гиперкинезами резидуально-органического генеза, 2 — с синдромом Жиль де ля Туретта и 1 — с тикозным гиперкинезом в резидуальном периоде ревматизма), у которых в процессе лечения получено значительное улучшение, но при отмене или значительном уменьшении доз препаратов тикозные гиперкинезы возобновились. Поэтому эти больные многие месяцы получали данную комбинацию препаратов в тех дозах, на которых был получен эффект.

Изложенное позволяет сделать ряд выводов и замечаний. Следует отметить сравнительно высокий терапевтический эффект применяемой терапии при том, что все больные безуспешно ранее лечились другими разнообразными средствами. Положительный лечебный эффект достигнут при уменьшении доз препаратов по сравнению с необходимыми при использовании каждого препарата в отдельности. В связи с этим практически не наблюдалось каких-либо серьезных осложнений и не требовалось применения корректоров. Таким образом, данная терапия рекомендуется для широкого применения с целью лечения тикозных гиперкинезов указанной природы. При лечении тикозных гиперкинезов в рамках невроза навязчивости значительно ослаблялись или исчезали другие его проявления, что указывает на эффективность терапии этого невроза.

Эффективность лечения базисной триадой (БД, литий, галоперидол) позволяет считать, что исходные представления о нейрохимических тикозных гиперкинезах при мононеврозе, неврозе навязчивостей и тиках резидуально-органического генеза подтвердились. Отмеченные особенности динамики сложных синдромов подобны тем, которые описаны ранее при редукции ПС [27]. Показано, что сохранение клинически не проявляющейся патологической детерминанты является фактором риска: при неблагоприятных условиях, способствую-

щих ее активации (новые патогенные воздействия), или отмене поддерживающей терапии патологическая детерминанта может реактивироваться и вызывать восстановление всей ПС, что приводит к рецидиву синдрома. Эта ситуация отмечена у ряда больных, прекративших поддерживающую терапию, перенесших новое заболевание, физический или психический стресс. Необходимость в случаях неполного выздоровления постоянного подавления усиленных ДА-ергических и активации ГАМК-ергических систем для подавления гиперактивных детерминантных структур в центральном двигательном аппарате еще раз свидетельствует об их роли в патогенезе тикозных гиперкинезов. Это имеет место и при эпилепсии, когда для подавления очага судорожной активности, представляющего собой генератор патологически усиленного возбуждения (ГПУВ), необходима постоянная поддерживающая терапия для тонической активации тормозных механизмов (активация антиэпилептической системы). С таким заключением согласуются данные о патогенетической близости судорожных состояний и гиперкинетического синдрома [79].

7.5. Применение бензодиазепиновых препаратов в лечении эпилепсии

Использование БД в комплексе лечебных мероприятий при эпилепсии резко повысило эффективность последних. БД широко применяются при лечении эпилептических припадков и нарушений эмоциональной сферы. Их используют для кратковременного применения (например, диазепам — для лечения эпилептического статуса) и длительного курсового лечения. БД применяют изолированно или в сочетании с другими препаратами.

БД при эпилепсии применяют для активации тормозных функций ГАМК [80], дефицит которой выявлен в эксперименте при локализации очагов в коре и подкорке, а также при исследовании операционного материала при хирургическом лечении эпилепсии [81, 82]. Предполагают, что противосудорожный эффект БД связан с их взаимодействием с ЦБДР I [83].

Общепризнано, что тип припадка определяет выбор противоэпилептического препарата. Это в полной мере касается и БД. Несмотря на то что применение БД возможно при различных типах припадков, в ряде исследований показана специфическая направленность действия отдельных БД на определенный тип припадков. В первую очередь это относится к нитразепаму, эффективность которого при пропульсивных припадках колеблется, по данным различных авторов, от 30 до 77 % [84—87]. Нитразепам также более эффективен, чем диазепам, при миоклонических припадках и синдроме Леннокса — Гасто [85, 86]. Хороший эффект получен при лечении нитразепамом пароксизмов, наблюдающихся в первые часы сна и диссомнических нарушений при эпилепсии у взрослых больных [88, 89]. Показана наибольшая эффективность применения клоназепама при лечении различных форм бессудорожных припадков [87, 90—92]. Феназепам в комплексном лечении эпилепсии эффективно воздействует на различ-

ные бессудорожные типы припадков (простые и сложные абсансы, психомоторные и вегетативные пароксизмы), а также серийные и полиморфные пароксизмы [93—95]. Диазепам широко применяется при купировании эпилептического статуса, серийных припадков и сумеречных состояний. Д. Шмидт [90] приводит следующие данные об эффективности диазепама при различных вариантах статуса эпилептических припадков при в/в введении: статус генерализованных судорожных припадков — в 79 % случаев, абсансов — в 75 %, статус парциальных припадков (без деления на простые и сложные парциальные припадки) — в 88 %, припадков при синдроме Леннокса — Гасто — в 60 %, пропульсивных припадков — в 46 % случаев. В последнее время появились сообщения о применении лоразепама при эпилепсии [46, 96], в частности при резистентных к терапии сложных парциальных (психомоторных) пароксизмах [97]. Вместе с тем авторы подчеркивают узость терапевтической дозы препарата: при уровне 20—30 нг/мл в плазме крови препарат оказывает лечебный эффект, а при 33 нг/мл — появляются побочные эффекты. Остальные БД в связи с низким противосудорожным эффектом непосредственно для лечения эпилептических припадков не применяются, но в сочетании с антиконвульсантами эффективны для коррекции нарушений эмоционально-волевой сферы при эпилепсии [4, 98].

Учитывая изложенное, БД применяли в комплексе с антиконвульсантами основной группы для лечения полиморфных припадков, резистентных к обычной терапии. Под наблюдением находилось 125 больных резидуальной эпилепсией с полиморфными припадками в возрасте 1,5—18 лет с длительностью заболевания от нескольких месяцев до 10—12 лет. По вариантам полиморфизма больные были разделены на три группы. В 1-ю группу вошло 23 больных с различной тяжестью пароксизмов в период становления полной формулы очагового припадка в начале заболевания или появлением припадков с редуцированными компонентами в период их успешного лечения. 2-ю группу с полиморфизмом припадков, возникшим в результате процесса возрастной трансформации пароксизмов, составили 92 больных, в том числе 34 с возрастной трансформацией височных припадков (постепенное усложнение структуры автоматизмов и увеличение длительности элементарных психомоторных припадков или трансформация сложных абсансов или псевдоабсансов в типичные височные пароксизмы) и 58 больных с возрастной трансформацией генерализованных форм припадков (трансформация пропульсивных, атонических, миоклонических припадков и абсансов в генерализованные судорожные припадки). В 3-ю группу вошло 10 чел. с наличием полиморфных припадков вследствие многоочагового поражения мозга.

Лечение проводили на основании принципов, обобщенных в вышедших в последнее время работах [87, 98—102], с учетом характера припадков, их частоты и приуроченности ко времени суток, наличию сопутствующих изменений в психической сфере, изменений на ЭЭГ, данных о возможности комбинирования противоэпилептических средств [87, 98—102]. Полного прекращения приступов удалось достичь у 19 % больных, а их уменьшение на 50 % и более наблюда-

лось у 40,8 % больных (табл. 7.8). Эти данные ниже приводимых в литературе результатов: 35—60 % при очаговых формах припадков и 60—80 % при генерализованных формах припадков [103], поскольку исследовались только больные с полиморфными припадками, более резистентными к терапии и требующими длительного и тщательного подбора препаратов.

Для повышения эффективности лечения терапевтически резистентных припадков в терапию были введены БД: диазепам, феназепам,

Таблица 7.8. **Результаты дифференцированного лечения больных эпилепсией с полиморфными припадками основными антиэпилептическими средствами ***

Тип полиморфизма припадков	Число больных	Без изменения частоты припадков	Уменьшение частоты припадков на					Ухудшение
			25 %	25 %	50 %	75 %	100 %	
Полиморфизм в период становления полной формулы очагового припадка	23	2 (8,7)	—	5 (22)	4 (16,6)	5 (22)	5 (22)	2 (8,7)
Полиморфизм в период возрастной трансформации генерализованных типов припадков	58	17 (31,2)	1 (1,9)	3 (5,8)	10 (18)	13 (23,2)	10 (18)	1 (1,9)
Полиморфизм в период возрастной трансформации височных припадков	34	12 (35,5)	—	2 6 %	—	12 35,5 %	7 20 %	1 3 %
Полиморфизм вследствие многоочагового поражения мозга	10	2 (20)	—	2 (20)	3 (30)	2 (20)	1 (10)	—
Всего	125	33 (26,2)	1 (0,8)	12 (10)	17 (14,4)	32 (26,4)	23 (19)	4 (3,2)

* В скобках — то же в процентах.

клоназепам и нитразепам. Их применяли в общепринятых возрастных дозах. Включение в терапию БД привело к прекращению припадков еще у 25 % больных, уменьшению их частоты на 50 % и более — у 57,2 % больных (табл. 7.9). Наши данные позволяют отметить ряд особенностей действия БД. Получена высокая эффективность диазепама и феназепама при купировании рецидивов генерализованных припадков и пароксизмов височного типа. Довольно часто у исследованных детей встречались такие височные пароксизмы, как ночные страхи, снохождения и оральные автоматизмы во время ночного сна. В этих случаях наиболее эффективен был нитразепам при значительно меньшей эффективности других БД. Следует отметить также

большую силу действия феназепама и клоназепама по сравнению с диазепамом. Так, замена у части больных диазепама на феназепам или клоназепам приводила к значительному сокращению частоты абсансов и височных припадков.

Назначение БД больным, кроме урежения припадков, давало уменьшение выраженности сопутствующих изменений в психической сфере. У дошкольников и младших школьников снижались расторможенность, агрессивность по отношению к сверстникам и другие эмоционально-волевые нарушения. У детей более старшего возраста

Таблица 7.9. **Результаты применения препаратов БД-ряда у больных эпилепсией с полиморфными припадками** *

Тип полиморфизма припадков	Число больных	Без изменения частоты припадков	Уменьшение частоты припадков на					Ухудшение
			25 %	25 %	50 %	75 %	100 %	
Полиморфизм в период становления полной формулы очагового припадка	8	—	—	—	1 (12,5)	6 (75)	1 (12,5)	—
Полиморфизм в период возрастной трансформации генерализованных типов припадков	28	2 (7,2)	2 (7,2)	2 (7,2)	6 (21,6)	7 (25,0)	8 (28,5)	1 (3,1)
Полиморфизм в период возрастной трансформации височных припадков	14	1 (7,1)	—	1 (7,1)	4 (28,6)	4 (28,6)	4 (28,6)	—
Полиморфизм вследствие многоочагового поражения мозга	6	1 (16,7)	—	—	2 (33,3)	2 (33,3)	1 (16,7)	—
Всего	56	4 (7,1)	2 (3,6)	3 (5,4)	13 (23,2)	19 (34)	14 (25)	1 (1,7)

* В скобках — то же в процентах.

уменьшалась выраженность колебаний настроения и дистамий. Во всех возрастных группах больных исчезали диссомнические расстройства.

Применение БД лишь у некоторых больных вызвало побочные эффекты: сонливость, вялость и нарушение походки. У большинства детей они проходили через несколько дней после начала лечения, и лишь изредка приходилось отменять лечение клоназепамом (два случая) из-за развития коллапса, выраженной мышечной гипотонии и атаксии на фоне грубой органической патологии.

В литературе описывается развитие толерантности во время длительного применения БД при лечении эпилепсии. Показано, что при непрерывном лечении диазепамом в течение 4—6 месяцев его эффективность во всех случаях снижается на 40 % [104]. То же наблюдается в случае применения нитразепама— его эффективность падает при длительной терапии у 7—30 % больных при пропульсивных припад-

ках [84]. Противоэпилептическая активность клоназепама также снижается [105, 106]: у 16 % детей после 3 месяцев лечения клоназепамом отмечены рецидивы припадков [107].

При применении БД у обследованных нами больных толерантность к ним развилась в 32 % случаев (18 чел.). На фоне приема БД отмечались рецидивы припадков без экзогенной провокации после 1—11 месяцев их постоянного применения. В случаях рецидивов доза препаратов увеличивалась или проводилась замена менее сильных БД (например, диазепама) на более мощные — феназепам или клоназепам. Ярким примером развития толерантности к диазепаму могут служить двое больных со склонностью к серийному течению генерализованных судорожных припадков в сочетании с импульсивными припадками (1 чел.) и абсансами (1 чел.). У них за год доза диазепама, купировавшая серийность и предотвращавшая развитие статуса при в/м или в/в введении, увеличилась с 0,5 мл до 1,5 мл 0,5 %-ного раствора. В связи с этим, учитывая возможность развития толерантности, можно рекомендовать включение БД в ранее проводимую терапию для повышения ее эффективности на сроки от 3 до 4—6 месяцев, а также при необходимости замену «слабого» препарата более «сильным» (например, диазепама на феназепам или клоназепам). По литературным данным, терапевтическая эффективность БД восстанавливается при развитии толерантности через 1 месяц после их отмены [108]. Нейрохимической основой толерантности и снижения антиэпилептической активности при длительном применении БД является редукция БДР в мозгу [109].

Обладая сильными транквилизирующими свойствами, БД могут применяться и с превентивной целью у больных перед эмоционально насыщенными событиями, которые могут провоцировать появление припадков. Введение в терапию диазепама у больных с терапевтической ремиссией за несколько дней до тонзиллэктомии (2 чел.), перед полетом в самолете (2 чел.) предотвратило развитие рецидивов.

В последнее время для лечения эпилепсии широко применяются препараты вальпроевой кислоты — вальпроат натрия (конвулекс, депакин) и вальпроат магния (конвульсофин). Учитывая, что механизм действия этих препаратов связан с непрямым ингибированием ГАМК-трансаминазы [110] и тем самым увеличением медиаторного «пула» ГАМК, а БД, модулируя ГАМКР, повышают его чувствительность к ГАМК [80], следует ожидать потенцирования действия этих препаратов при совместном применении. В литературе имеются лишь единичные работы по совместному применению БД и препаратов вальпроевой кислоты в лечении эпилепсии с положительным [111] и отрицательным [112] эффектом. Позитивное влияние установлено при сочетании конвулекса с клоназепамом и нитразепамом, а негативный эффект (развитие статуса абсансов) — при применении только конвулекса с клоназепамом (у 1 больной).

В связи с разноречивостью приведенных данных изучено влияние совместной терапии конвулексом и БД при эпилепсии у детей. В группе детей и подростков (13 больных), у которых с помощью БД удалось повысить эффективность противосудорожных средств лишь на

25—40 %, в дальнейшем в схему лечения был включен конвулекс. При этом он сочетался с диазепамом (4 чел.), феназепамом, клоназепамом и нитразепамом (по 3 чел.). Конвулекс применялся в дозах 300—900 мг/сут. Припадки полностью прекратились у 4 больных, уменьшение числа пароксизмов на 75—95 % отмечено у 7 больных. В последних случаях полностью прекратились абсансы (2 чел.), импульсивные и психомоторные припадки (по 1 чел.); другие виды приступов при этом стали значительно реже. Меньше всего редуцировались генерализованные судорожные припадки. При преобладании в клинической картине адверсивных припадков (1 чел.) и частых, в основном в ночное время, вторично генерализованных судорожных припадков (1 чел.) применение БД и конвулекса было неэффективным. Рецидивы в дальнейшем развились у 2 больных в связи со снижением доз из-за заболевания инфекционным гепатитом (1 чел.) и без видимой экзогенной причины (1 чел.). У исследованных больных сочетанное применение конвулекса с клоназепамом или феназепамом было более эффективным, чем сочетание конвулекса с нитразепамом или диазепамом.

Таким образом, у больных эпилепсией с полиморфными припадками при лечении БД следует учитывать их преимущественную эффективность: нитразепама — при пропульсивных припадках и приступах в первую половину ночного сна; клоназепама и феназепама — при различных вариантах абсансов и психомоторных припадках; диазепама и феназепама — при склонности к серийному течению эпилепсии. Использование БД в лечении эпилепсии не исключает развития толерантности, что может явиться причиной рецидивов. В связи с этим курсы лечения БД должны ограничиваться 3—6 месяцами с индивидуальными колебаниями. В случаях развития толерантности показано увеличение дозы препарата или замена «слабого» БД более «сильным». Учитывая возможность развития рецидивов припадков, БД следует использовать не изолированно, а в комбинации с антиконвульсантами основной группы. Совместное применение БД и препаратов вальпроевой кислоты за счет синергического влияния на ГАМК-БД-пикротоксиновый рецепторный комплекс значительно повышает эффективность лечения больных эпилепсией с полиморфными припадками.

7.6. Лечение алкоголизма и токсикоманий бензодиазепинами

До последнего времени в клинической практике и при экспериментальном изучении алкоголизма и токсикоманий проводились многочисленные исследования наиболее демонстративных, ярких по своим проявлениям симптомов болезни: самого факта злоупотребления этанолом или наркотиком в динамике и абстиненций, связанных с его прекращением. При этом наиболее значимые клинические феномены этих заболеваний — прогредиентность легких начальных психопатологических расстройств, расстройств психических функций во внеинтоксикационный период (во время становления терапевтической

ремиссии), а также их связь с нейрохимическими системами ЦНС изучались недостаточно. Понимание биологических механизмов этих состояний в сочетании с клиническими наблюдениями может явиться основой для разработки адекватных способов лечения и профилактики (например, компульсивного влечения и др.).

Известно, что состояние опьянения, вызванного этанолом, непосредственно связано с функционированием ГАМК-БД-ионофорного ансамбля. Этанол среди прочих эффектов воздействия на состояние липидных мембран стимулирует ГАМК-рецепторы, что обусловливает повышение проводимости хлорного ионного канала. Увеличение поступления ионов Cl в нервные клетки, имеющие на синаптических мембранах ГАМК-рецепторы, вызывает нарастающее усиление тормозных процессов, что приводит к растормаживанию подкорковых и эмоциогенных структур мозга на начальных и их последующему торможению на последующих стадиях глубокого опьянения.

Имеются данные о том, что введение антагониста БДР Ro 15—4513 блокирует действие этанола на клеточные мембраны на участке БДР и снимает состояние опьянения, несмотря на сохранение повышенного уровня содержания этанола в крови.

Участие ГАМК-БД-ионофорного комплекса в возникновении состояния абстиненции более сложное и включает влияние на чувствительность и число ГАМК- и БДР, а также появление в крови эндогенных бетакарболинов за счет реакции ацетальдегида с производными индола и других механизмов [113—115; 118; 119].

Развитие современных взглядов на роль дисфункции нейромедиаторных систем в происхождении психопатологических феноменов дает достаточные посылки для анализа механизмов их возникновения и развития как в условиях хронической алкогольной и наркотической интоксикации, абстинентных состояний, так и в постинтоксикационном периоде, включая астенические, аффективные расстройства, изменения личности вплоть до начальных интеллектуальных расстройств.

В плане тематики данной монографии представляется перспективным изучение изменений ГАМК-ергической системы в формировании алкоголизма и токсикомании, ее взаимоотношения с другими системами неспецифической регуляции функций мозга (норадреналиновой, дофаминовой, опиатной и др.). Сложны и не до конца раскрыты взаимоотношения двух тормозных систем — ГАМК-ергической и опиатной в тех областях мозга, в которых обнаруживается высокая плотность энкефалинергических терминалей и опиатных рецепторов и одновременно большая концентрация ГАМК [113]. Локализация опиатных рецепторов в головном мозгу указывает на то, что энкефалинсодержащие нейроны могут образовывать аксо-аксонные и аксо-дендритные синапсы, осуществляя пре- и постсинаптическое торможение в отделах мозга, в том числе и в отношении других тормозных нейронов, передача торможения которыми опосредована ГАМК [113, 114].

Фармакологические эффекты постсинаптических антагонистов ГАМК — пикротоксина и бикукуллина — потенцируются антаго-

нистом опиатных рецепторов налоксоном и инвертируются небольшими дозами морфина, что указывает на прямое влияние эндогенных опиатов на ГАМК-ергическую систему [113]. Механизм модификации судорожного эффекта конвульсантов морфином и налоксоном до конца неясен, тем не менее установлено, что налоксон является неконкурентным ингибитором постсинаптических ГАМК-рецепторов. Хроническое введение морфина приводит к снижению в мозгу содержания ГАМК в основном за счет уменьшения активности глютаматдекарбоксилазы [115]. Имеются данные об участии в изменении активности ГАМК-ергических нейронов наряду с ДА-ергическими, опиатными нейронами и о реализации части из указанных изменений через систему аденилатциклазы, а также уровня ЦАМФ в механизме алкогольной и опиатной абстиненции [116]. Наибольшая роль при этом отводится системам неспецифической регуляции ХЯ, черной субстанции, паллидума и гиппокампа [113]. Это объясняет клинический эффект препаратов, усиливающих ГАМК-ергический контроль при абстинентном синдроме, вызванном отменой морфина. Известно, что одним из путей активации ГАМК-ергической системы является применение БД, которые активизируют ГАМК-ергическую передачу посредством БДР, входящих в состав ГАМК-БД-рецепторного ансамбля [83, 117]. Об участии механизма снижения функциональной активности ГАМК-БД-рецепторов и ГАМК-эргической передачи и, как следствие, соответствующей активации адренергической медиации при морфинной, барбитуровой и алкогольной абстиненции сообщают многие исследователи [113—115, 118, 119]. Таким образом, применение агонистов БДР, усиливающих ГАМК-ергическую систему, позволяет активно регулировать нейромедиаторную передачу при состояних абстиненции, вызывая клинически анксиолитический, седативный, противоконвульсивный, миорелаксирующий и другие эффекты. Однако дальнейшее течение болезни в период после купирования абстиненции характеризуется уже более разнообразными психопатологическими синдромами, отражающими продолжающиеся патологические процессы в головном мозгу, что требует последующей этапной терапевтической коррекции с учетом не только изменения синаптической медиации, но и значительных метаболических нарушений в нервной ткани и во всем организме.

Хроническая интоксикация опиатами, барбитуратами, этанолом влияет на основной жизнеобеспечивающий механизм — биоэнергетику, разобщая или (и) угнетая окислительное фосфорилирование. Алкоголь и наркотические вещества, будучи липидорастворимыми, нарушают клеточные мембраны, изменяя и извращая их функции, снижают микросомальное окисление и другие ферментативные процессы [115]. Возможность БД активировать ГАМК-ергическую систему синаптической передачи приводит одновременно к включению ГАМК в обменные процессы внутриклеточного метаболизма (шунт ГАМК). Внутриклеточной ГАМК принадлежит организующая роль в функционировании пентозофосфатного пути окисления, биосинтеза пентоз, используемых для синтеза нуклеиновых кислот [113, 120, 121]. Столь значимые метаболические эффекты ГАМК, наряду с ее

медиаторной функцией, позволяют эффективно восстанавливать нарушенные окислительно-восстановительные процессы, нормализовать психическую деятельность после исчезновения клинических проявлений интоксикации, которые в раннем постабстинентном периоде выражаются раздражительной слабостью, тревогой, астено-депрессивными, астено-ипохондрическими состояниями, диссомническими расстройствами, которые без своевременного лечения могут претерпевать качественные изменения и утяжеляться. Нарастает аффект тоски, тревоги, угнетенного настроения. Часто на этом фоне возникают кардиальные сенестопатии, страх смерти вследствие соматического заболевания (кардиофобический раптус) и т. д. При этом такие резидуальные состояния могут продолжаться многие недели и даже месяцы, нередко провоцируя алкогольные эксцессы или новый рецидив болезни.

Особую группу составляют больные психопатоподобными расстройствами, чаще наблюдающимися при токсикоманиях, с преобладанием тоскливо-злобного аффекта, взрывчатости, конфликтности, снижения общего фона настроения, тревоги. Использование, кроме клинических, психологических методов исследования больных алкоголизмом и токсикоманией позволяет более тщательно проследить динамику психопатологических феноменов у этих больных [122].

Психологическому обследованию подверглись 84 больных опийной наркоманией; средний возраст — 17,2 лет. В качестве методов исследования были выбраны адаптированный анкетный тест MMPI (Миннесотский многопрофильный личностный опросник) [123], тесты ПДТ (психодиагностический) [126] и ПДО (патохарактерологический диагностический опросник) [124]. Комплексное использование этих личностных опросников, дополняющих друг друга, имеющих большие массивы данных контрольных групп здоровых испытуемых, позволяет избежать ошибочных выводов, которые могут возникнуть при использовании одного из них. Каждый испытуемый обследовался дважды: на 3—7-е сутки после поступления в клинику, сразу же после купирования абстиненции и по окончании двухмесячного курса лечения, одним из главных элементов которого были БД (в частности, феназепам, применяемый в суточной дозировке 3—9 мг 2—3 раза в сутки).

Усредненный профиль MMPI по оценочным шкалам свидетельствовал о некотором искажении защитной реакции на обследование, а по основным шкалам — выявлял такие особенности, как повышенная вероятность реализации эмоциональной напряженности в непосредственном поведении, снижение способности к социальной адаптации (повышенная оценка по шкале ассоциальной психопатии), повышенный уровень активности, сочетавшейся со сниженным фоном настроения и повышенным уровнем тревоги (повышенные оценки по шкалам депрессии и гипомании). По данным ПДО, в поведении испытуемых в большинстве случаев доминировали черты неустойчивости, гипертимности или эпилептоидности. Отмечалось значительное превышение полученных оценок по отношению к минимальному диагностическому числу, что могло быть вызвано декомпенсацией характерологических

заостренных черт. Сопоставление данных MMPI и ПДО позволило объяснить совпадение повышенных оценок по шкалам депрессии и гипомании: повышенный уровень активности является устойчивой преморбидной личностной характеристикой, а снижение фона настроения и повышение уровня тревоги — проявление абстинентного синдрома и реакции на госпитализацию.

В личностном профиле ПДТ наиболее существенными особенностями были низкие оценки по шкале невротизма и высокие по шкале психотизма. Подобные результаты получены при обследовании делинквентных подростков посредством методики, выявляющей уровень их невротизации или психопатизации (УНП) [125]. Такое сочетание свидетельствовало об энергичности, регидной целеустремленности, субъективизме, эгоизме, агрессивности и конфликтности. Получены также низкие оценки по фактору совестливость, что характерно для асоциальных психопатов и правонарушителей, высокие оценки по шкалам расторможенности, психической неуравновешенности, асоциальности, пониженные оценки по факторам интроверсии и сензитивности.

После проведенного курса лечения с применением БД усредненный профиль MMPI свидетельствовал об уменьшении уровня тревоги, повышении фона настроения (снизилась оценка по шкале депрессии). В профиле по основным шкалам снизилась оценка по шкале асоциальной психопатии, а по оценочным шкалам — оценка по шкале достоверности и повысилась по шкале коррекции, что может свидетельствовать о большем стремлении следовать социальным нормам. Исследования с помощью ПДО констатируют сохранение выявленного первоначального типа акцентуации характера, уменьшение числа оценок с превышением над минимальным диагностическим числом. В личностном профиле ПДТ наблюдалось некоторое повышение оценок по фактору невротизма: оценки по шкалам психотизма, расторможенности, психической неуравновешенности и социальности уменьшились, возросла оценка по фактору совестливости, что свидетельствует об усилении анализа своих поступков, появлении критического отношения.

Таким образом, у больных наркоманией при лечении препаратами БД, помимо анксиолитического действия, уменьшается выраженность психопатических черт характера, изменяются сложившиеся поведенческие стереотипы, что способствует ресоциализации этих больных.

Характер, структура и динамика нарушений познавательной деятельности изучены у 43 больных в возрасте 24—52 лет в энцефалопатической стадии алкоголизма в период сочетанной терапии БД с ноотропами (феназепам — 3—9 мг/сут, пирацетам — 4—6 г/сут) для выявления степени обратимости психопатологических нарушений. Все больные ранее неоднократно лечились по поводу алкоголизма. Применялся ряд стандартизированных методик: рисуночный тест «Н—Р—Т», тест зрительной ретенции Бентона, проба Эббингауза, методика «пиктограмм», тест интеллекта Векслера, нейропсихологическая методика Л. Вассермана. Близость выбранных методик по направленности позволяла более полно изучить проявления психи-

ческой деятельности, давала возможность получить стандартизированную оценку интеллектуальной результативности и более достоверно судить о степени, характере и обратимости признаков интеллектуальной деградации.

При исследовании интеллектуально-мнестических функций испытуемых после купирования абстинентных явлений обнаружена грубая диспропорция между клинической и психологической оценками уровня их интеллектуальной продуктивности. Так, ИСО, по данным теста Векслера, в среднем соответствовала уровню «пограничной» зоны между нормой и интеллектуальным дефектом (70—79). Качественный анализ выполнения отдельных субтестов свидетельствовал о дисгармоничности интеллектуальной деятельности испытуемых: наиболее высокая результативность отмечалась при выполнении заданий вербальной части методики (ни у одного из обследуемых больных вербальная ИСО не соответствовала уровню дефекта). В то же время успешность выполнения заданий ее перформативной части была значительно ниже и соответствовала градации «интеллектуальный дефект». Это соответствует особой чувствительности субтестов перформативной части методики Векслера к изменениям «органического спектра», выраженности у больных патопсихологического органического симптомокомплекса. Другими методиками выявлены значительные изменения по диффузионно-органическому типу, что снижало общую интеллектуальную продуктивность и обусловливало низкую клиническую оценку имевшихся нарушений в рамках алкогольного слабоумия.

В процессе лечения и условиях терапевтической ремиссии обнаружен определенный регресс выявленных нарушений; ИСО по Векслеру в среднем соответствовала «низкой» норме, снижалась тотальность признаков патопсихологического органического симптомокомплекса, хотя «органические изменения» все еще были выраженными. Улучшались память и речь, способность к чтению, письму, зрительно-цветовому гнозису, конструктивно-динамическому праксису, повышалась успешность выполнения интеллектуальных операций. Стойкими оставались нарушения динамики мыслительной деятельности и мотивационно-личностной сферы.

Результаты дальнейшего обследования больных в терапевтической ремиссии (от 6 месяцев до 2 лет) свидетельствовали о дальнейшем регрессе нарушений психической деятельности: признаки органического патопсихологического симптомокомплекса были умеренно выражены, улучшались динамические функции мышления. Однако выраженные нарушения мотивации сохранялись.

Таким образом, у большинства больных более высокая результативность, по данным патопсихологического эксперимента, исключала негативное прогнозирование, основанное на клинической оценке. Выявленный патопсихологический органический симптомокомплекс под влиянием адекватной сочетанной терапии с применением БД подвергался обратному развитию.

Исходя из представлений о роли дефицита ГАМК-ергического торможения при алкогольном абстинентном синдроме, обусловливаю-

щего анксиогенный и конвульсивный эффекты, сформулировано предположение, что фармакологическая блокада ГАМК-ергического торможения с появлением отчетливого анксиогенного эффекта в сочетании с приемом небольших доз алкоголя будет вызывать к последнему стойкое эмоционально-негативное отношение. Предложена методика аверсионной терапии алкоголизма, основанная на сочетании приема незначительного количества алкоголя с введением анксиогенных (субконвульсивных) доз коразола, в результате чего у больных вырабатывалась сравнительно прочная антиалкогольная установка и подавлялось патологическое влечение к алкоголю.

Коразол (пентилентетразол, метразол) относится к группе дыхательных аналептиков, однако в анксиогенных (субконвульсивных) дозах используется также при скрининге седативных и анксиолитических веществ [127]. Он хорошо проникает через гематоэнцефалический барьер. Его действие объясняют конкурентной блокадой ГАМКР постсинаптической мембраны с подавлением ГАМК-ергического торможения [128]. Коразол влияет либо непосредственно на хлорный канал [129], либо через воздействие на БДР [127, 130, 131]. Вопрос о конкретном месте его действия является дискуссионным, особенно из-за очень низких величин, характеризующих его специфическое связывание с БДР [131]. IC_{50} при вытеснении ^{3}H-диазепама составляет 2,3 ммоль [130]. Показана известная степень корреляции между величиной IC_{50} и минимальной конвульсивной дозой среди производных тетразола и других ближайших аналогов коразола [131]. Клиническим эффектом применяемых доз коразола являются тревога и судорожные припадки, т. е. коразол является инверсным агонистом ГАМК [128].

Лечение проводилось 38 больным алкоголизмом во II стадии в возрасте 27—54 лет, 18 из них лечились повторно. Методика не применялась у больных с судорожными пароксизмами в анамнезе. У 16 чел. перед началом исследования, а также после введения коразола регистрировалась ЭЭГ. Всем больным в первый день вводили в/в 1,0 мл 10 %-ного раствора коразола. На основании поведенческой и электроэнцефалографической реакции индивидуально подбиралась доза препарата: от 200 до 500 мг на прием. Коразол вводился в/в, медленно, через 10 мин после приема 30—50 мл алкогольного напитка.

В первые минуты после введения коразола возникали головокружение, тяжесть в голове и груди, дрожь в конечностях, мелькание в глазах, мышечная слабость. Это состояние проходило через 2—4 мин, после чего наступало чувство выраженного психического дискомфорта, которое больные оценивали как крайне тягостное, неприятное, актуализировавшее образы, вызывающие отвращение. Признаков алкогольного опьянения субъективно никем не отмечалось. Показатели гемодинамики, частота дыхания, данные ЭЭГ существенно не менялись. У всех больных уже после первых 2—3 сеансов терапии отмечалось снижение влечения к алкоголю, а в дальнейшем — стойкая эмоционально негативная реакция на спиртное, подкреплявшаяся активным психотерапевтическим воздействием. Общий курс терапии состоял из 10—15 сеансов.

Катамнестическое наблюдение сроком от 6 до 12 месяцев позволило отметить большую эффективность лечения в данной группе по сравнению с аналогичным контингентом больных, получавших терапию антабусом по классической методике.

Изложенные результаты изучения как моновалентной терапии БД, так и в комплексе с другими психотропными средствами и метаболическими препаратами при различных типах течения шизофрении, тикозных гиперкинезах и неврозе навязчивости у детей и подростков, резидуальной эпилепсии с полиморфными припадками, алкоголизме и наркомании свидетельствуют о новых, перспективных в плане дальнейшего поиска направлениях клинического использования производных БД. Прежде всего необходимо отметить, что на доклиническом этапе скрининга БД весьма целесообразны модели сложных нейро- и психопатологических синдромов (модели многоочаговой корковой эпилепсии, стереотипного поведения, кататонического синдрома, процессуального психоза с прогредиентным течением и др.), обладающие достаточно жесткой сменяемостью стадий, цельностью и полиморфизмом поведенческих проявлений. Эти модели, воспроизводимые на животных со сложной организацией нервной системы (кошки), позволяют испытывать БД в динамике развития патологического процесса, при различной по тяжести патологической симптоматике с тем, чтобы выявлять не только «мишень» — симптомы для БД, но и улавливать возможности их воздействия на интегративные параметры патологического процесса, в частности на его стереотип течения. Уступая известным методикам скрининга психотропных средств в быстроте исследования большого количества производных, эти модели, учитывая чрезвычайно актуальную проблему лекарственного патоморфизма психических заболеваний, могут стать удобным инструментом для изучения «доклинического» патоморфоза нейро- и психопатологических синдромов для выявления временной силы терапевтического эффекта синтезируемых средств. Не исключено, что этот параметр активности производных БД, наряду с уже исследующимися (анксиолитическим, противосудорожным и др.), может стать одним из обязательных при их скрининге. Поэтому дальнейшее клиническое изучение БД должно основываться на применении патогенетически обусловленных схем терапии, учитывающих как механизмы развития психопатологических процессов на супрамолекулярном уровне, так и нейрохимические основы психотропного действия вновь синтезируемых средств.

1. *Александровский Ю. А.* Клиническая фармакология транквилизаторов.— М. : Медицина, 1973.— 321 с.
2. *Александровский Ю. А.* Состояния психической дезадаптации и их компенсация.— М. : Наука, 1976.— 216 с.
3. *Бурназян Г. А.* Психофармакотерапия. — Ереван : Айастан, 1980. — 224 с.
4. *Авруцкий Г. Я., Недува А. А.* Лечение психически больных.— М. : Медицина, 1981.— 496 с.
5. *Аничков С. В.* Нейрофармакология.— Л. : Медицина, 1982.— 384 с.
6. *Феназепам* / С. А. Андронати, Г. Я. Авруцкий, А. В. Богатский и др.— Киев : Наук. думка, 1982.— 288 с.

7. *The benzodiazepines:* From molecular biology to clinical practice/ Ed. by E. Costa.— New York : Raven press, 1983.— 610 p.
8. *Pöldinger W., Wider F.* Tranquiliser und Hypnotica.— Stuttgart; New York : Verl. G. Fischer, 1985.— 93 S.
9. *Машковский М. Д.* Лекарственные средства : В 2 т.— М. : Медицина, 1986.— Т. 1.— 622 с.
10. *Pöldinger W.* Compendium of Psychopharmacotherapy.— Basile : Editiones Roche, 1984.— 203 p.
11. *Анохин П. К.* Очерки по физиологии функциональных систем.— М. : Медицина, 1976.— 448 с.
12. *Антохин Е. А.* Сравнительная эффективность транквилизаторов бензодиазепинового ряда и перекрестная толерантность // Новые лекарственные средства : Экспресс-информ.— 1985.— № 9.— С. 14—16.
13. *Ballenger J. C., Post R. M.* Carbamazepine in alcohol syndromes and schizophrenic psychoses // Psychopharmacol. Bull.— 1984.— **20**, N 3.— P. 572—584.
14. *Лапицкая И. Н., Копылова И. А.* Лечение эзукосом (диксиразином) некоторых психических заболеваний // Психофармакология и лечение нерв. и псих. заболеваний : Материалы конф. (9—12 дек. 1964).— Л. : Б. и., 1964.— С. 81—83.
15. *Завидовская Г. И.* Применение валиума и его аналогов (апаурина, дуксена) при лечении больных вялотекущей шизофренией // Вопр. клиники и совр. терапии псих. заболеваний — М. : Б. и., 1968.— С. 54—56.
16. *Frain M. K.* Physical, mental and emotional effects of librium in hospitalized psychotic patients // Diseases Nerv. Syst.— 1960.— **21**, N 8.—P. 453—457.
17. *Hekiman L. G., Friedhoff A. G.* A controlled Study of placebo, chlordiazepoxide and chlorpromazine with 30 Male Schizophrenic Patients // Ibid.— 1967.— **28**, N 10.— P. 675—678.
18. *Borelli N., Margerisson G.* Diazepam in longterm chronic Schisophrenia // Amer. J., Psychiatr.— 1966.— **122**, N 11.— P. 1292—1293.
19. *Артамонов В. П., Шраер Л. И.* Опыт применения элениума при лечении больных простой формой шизофрении // Дифференцированное применение психотропных средств.— Львов : Б. и., 1971.— С. 117—118.
20. *Diazepam* in schizophrenia: a preliminary double-blind trial / D. C. Jimerson, D. P. van Kammen, R. M. Post et al. // Amer. J. Psychiatr.— 1982.— **139**, N 4.— P. 489—491.
21. *High* doses of diazepam improve neuroleptic — resistant chronic schizophrenic patients // J. N. Nestiris, M. P. V. Nair, J. R. Pul et al. // Psychopharmacology.— 1983.— **81**, N 1.— P. 42—47.
22. *Руденко Г. М., Шатрова Н. Г., Лепахин В. К.* Особенности психотропной активности и эффективность при лечении различных состояний оригинального транквилизатора феназепама // Новые лекарственные средства : Экспресс-информ.— 1978.— № 3.— С. 7 — 29.
23. *Руденко Г. М., Шатрова Н. Г.* Об особенностях транквилизирующего действия и клинической эффективности феназепама // Там же.— 1979.— № 2.— С. 3—13.
24. *Опыт* лечения феназепамом больных с психотическими и пограничными состояниями // В. С. Чудновский, Т. В. Тычина, Л. Н. Страдаев и др. // Там же.— 1980.— № 4.— С. 22—24.
25. *Крыжановский Г. Н., Алиев М. Н.* Комплексная специфическая патогенетическая терапия синдрома стереотипного поведения // Журн. невропатологии и психиатрии.— 1980.— **80**, вып. 2.— С. 225—231.
26. *Островская Р. У., Молодавкин Г. М.* Об участии ГАМК-ергических структур в реализации эффектов галоперидола // Бюл. эксперим. биологии.— 1980.— № 3.— С. 313—315.
27. *Крыжановский Г. Н.* Детерминантные структуры в патологии нервной системы.— М. : Медицина, 1980.— 360 с.
28. *Анохина И. П., Гамалея Н. Б.* Современные биохимические концепции психических заболеваний. Сообщ. 1. Роль изменений системы биогенных аминов в патогенезе шизофрении // Журн. невропатологии и психиатрии.— 1979.— **79**, вып. 8.— С. 1096—1105.

29. *Анохина И. П., Коган Б. М.* Некоторые особенности обмена дофамина при шизофрении // Там же.— 1981.— 81, вып. 9.— С. 1343—1346.
30. *Крыжановский Г. Н., Алиев М. Н.* К патогенезу стереотипного поведения // Там же.— 1979.— 79, вып. 9.— С. 1347—1355.
31. *Klawans H. L., Gocddo C., Westheimer R.* Pathophysiology of Schizophrenia and the Striatum // Diseases Nerv. Syst.— 1972.— 33.— P. 711—719.
32. *Cooper J. R., Bloom F. E., Poth R. H.* The biochemical basis of Neuropharmacology.— London; Toronto; Oxford : University press.— 1974.— 280 p.
33. *А. с.* 1 265 831, СССР. МКИ ^{3}G09 В 23/28. Способ моделирования психоза / Г. Н. Крыжановский, Б. А. Лобасюк, А. Н. Моховиков и др.— Опубл. 22.06.86, Бюл. № 39.
34. *Молодавкин Г. М., Белоусова С. Г.* Влияние трифтазина и галоперидола на активность феназепама // Бюл. эксперим., биологии и медицины.— 1983.— № 8.— С. 64—66.
35. *Прилипко Л. Л., Лидеман Р. Р.* Процессы перекисного окисления липидов как один из факторов модификации мембраносвязанных белков нервных клеток при шизофрении // Вестн. АМН СССР.— 1982.— № 1.— С. 33—37.
36. *Арипова А. А.* Применение α-токоферола в комплексном лечении перинатальной гипоксии мозга у недоношенных детей // Педиатрия.— 1983.— № 3.— С. 50—52.
37. *Крыжановский Г. Н., Шандра А. А.* Применение никотинамида и пиридоксаль-5-фосфата для купирования экспериментальной эпилепсии // Журн. невропатологии и психиатрии.— 1981.— 81.— Вып. 6.— С. 801—809.
38. *Petrie W. M., Ban T. A., Ananth J. V.* The use of nicotinic acid and pyridoxine in the treatment of schizophrenia // Int. Pharmacopsychiatr.— 1981.— 16, N 4.— P. 245—250.
40. *Комплексное* применение феназепама, лития и галоперидола для лечения некоторых форм шизофрении / К. В. Москети, А. Н. Моховиков, С. Б. Аксентьев и др. // Журн. невропатологии и психиатрии.— 1984.— 84, вып. 4.— С. 589—594.
41. *Моховиков А. Н., Кадышева Н. М.* Клинико-катамнестические данные применения комплексной терапии феназепамом, литием, галоперидолом и антиоксидантами при шизофрении // VII съезд невропатологов и психиатров УССР: Тез. докл.— Винница : Б. и., 1984.— Т. 2.— С. 126—127.
42. *Кадышева Н. М., Моховиков А. Н.* Комплексное применение феназепама, галоперидола, лития и антиоксидантов для лечения некоторых форм шизофрении // Тр. науч. конф. молодых ученых и специалистов (секция психиатрии) / Одес. мед. ин-т им. Н. И. Пирогова МЗ УССР.— Одесса, 1984.— С. 3—10.— Деп. во ВНИИМИ МЗ СССР 17.01.85, № Д—8980.
43. *Наджаров Р. А.* Клиника неблагоприятно текущей юношеской («ядерной») шизофрении: — Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.— М., 1985.— 40 с.
44. *Смулевич А. Б.* О самостоятельности малопрогреднентной формы шизофрении // Журн. невропатологии и психиатрии.— 1980.— 80, вып. 8.— С. 1171—1179.
45. *Пападопулос Т. Ф.* Клиническая характеристика приступов периодической шизофрении // Вестн. АМН СССР.— 1966.— № 3.— С. 62—65.
46. *Транквилизатор* лоразепам в лечении больных эпилепсией с аффективными нарушениями / Э. Ф. Лаврецкая, А. Д. Кравченко, Т. Н. Привальнева, В. С. Аролович // Клин. фармакология препарата ативан (лозарепам): Материалы симпоз.— М. : Б. И., 1975.— С. 82—88.
47. *Букин Ю. В.* Пиридоксин // Экспериментальная витаминология.— Минск: Наука и техника, 1979.— С. 335—410.
48. *Макаров А. Ю.* Клиническая ликворология.— Л. : Медицина, 1984. —214 с.
49. *Осадчая Л. М.* Определение активности аминотрансфераз в тканях // Методы биохим. исслед.— Л. : Изд-во Ленингр. ун-та, 1978.— С. 246—259.
50. *Делекторская Л. Н.* О выборе оптимальных условий измерения активности аспартат-аминотрансферазы // Вопр. мед. химии.— 1978.— 24, № 1.— С. 92—96.
51. *Leque B., Guilland G.-C., Klepping G.* Effect d'un regime controle en chlorhydrate de pyridoxol sur les Teneurs hepatiques en vitamine B_6 sur les activities

transaminasiques erythrocytaires les la rat // C. r. Soc. Biol.— 1984.— 178, N 1.— P. 39—42.
52. *A simple* procedure for the rutine determination of aspartat aminotransferase and alanine aminotransferase with pyridoxal phospate / F. G. Gella, D. Olivella, M. C. Pastor et al. // Clin. chim. acta.— 1985.— 153, N 3.— P. 241—247.
53. *Розанов В. А., Кадышева Н. М., Михайленко А. Д.* Некоторые параллели между АСТ- и АЛТ-активностью, степенью активирующего эффекта пиридоксаль-5-фосфата и содержанием свободных аминокислот в ликворе больных шизофренией // V Всесоюз. симпоз. по мед. энзимологии: Тез. докл.— Махачкала : Б. И., 1986.— С. 126.
54. *Эглитис И. Р.* Сенестопатии.— Рига : Зинатне, 1977.— 184 с.
55. *К проблеме* психофармакотерапии малопрогредиентной ипохондрической шизофрении / А. Б. Смулевич, А. М. Басов, Э. Б. Дубникая, Л. Г. Измайлова // Журн. невропатологии и психиатрии.— 1979.— 79, вып. 11.— С. 1583—1587.
56. *Leongard K.* Prognostische Diagnose der Endogenen Psychosen / Sammlung zwangloser Abhandlungen aus dem Gebiete der Psychiatrie und Neurologie.— Jena, 1964.— Bd. 28.— S. 7.
57. *Наджаров Р. А.* Формы течения // Шизофрения : Мультидисциплинар. исслед.— М. : Медицина, 1979.— С. 16—76.
58. *Абрамова Л. И., Цуцульковская М. Я., Элиава В. Н.* К вопросу о типологии конечных состояний юношеской злокачественной шизофрении // Журн. невропатологии и психиатрии.— 1982.— 82, вып. 4.— С. 579—585.
59. *Фаворина В. Н.* О конечных состояниях шизофрении.— Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.— М., 1965.— 41 с.
60. *Kraepelin E.* Über paranoide Erkrankungen // Z. Ges. Neurol. Psychiat.— 1912.— 11, N 5.— S. 617—638.
61. *Вартанян Ф. Е.* Терапевтический патоморфоз в клинике юношеской злокачественно текущей шизофрении: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.— М., 1969.— 20 с.
62. *Рахманов Н. Р.* Особенности синдрома навязчивости при приступообразно-прогредиентной шизофрении // Здравоохранение Таджикистана.— 1978.— № 6.— С. 26—28.
63. *Джангильдин Ю. Т.* Сравнительная характеристика явлений навязчивости при различных формах течения шизофрении // Здравоохранение Казахстана.— 1979.— № 4.— С. 29—31.
64. *Смулевич А. Б., Пантелеева Г. П.* Некоторые актуальные проблемы клинической психофармакологии // Журн. невропатологии и психиатрии.— 1983.— 83, вып. 9.— С. 1345—1351.
65. *Сухарева Г. Е.* Клинические лекции по психиатрии детского возраста. В 2 т.— М. : Медгиз, 1959.— Т. 2.— 408 с.
66. *Гарбузов В. И., Захаров А. И., Исаев Д. Н.* Неврозы у детей и их лечение.— Л. : Медицина, 1977.— 272 с.
67. *Ковалев В. В.* Психиатрия детского возраста: Руководство для врачей.— М. : Медицина, 1979.— 608 с.
68. *Ковалев В. В., Шевченко Ю. С.* Невроз навязчивых состояний у детей и подростков: клиника, диагностика и лечение: Метод. рекомендации.— М. : Б. И., 1980.— 16 с.
69. *Антонов М. П., Шанько Г. Г.* Гиперкинезы у детей: вопр. этиологии, патогенеза и лечения.— Минск : Наука и техника, 1975.— 216 с.
70. *Козлова Т. А.* Этиология, патогенез и лечение тиков у детей // Педиатрия.— 1980.— № 3.— С. 45—47.
71. *Шевченко Ю. С.* Динамика и исходы невроза навязчивых состояний, начавшегося в детском и подростковом возрасте в свете катамнестического обследования // Журн. невропатологии и психиатрии.— 1979.— 79, вып. 10.— С. 1392—1396.
72. *Ковалев В. В.* Семиотика и диагностика психических заболеваний у детей и подростков.— М. : Медицина, 1985.— 286 с.
73. *Иванов-Смоленский А. Г.* Очерки патофизиологии высшей нервной деятельности.— М. : Медгиз, 1949.— 288 с.

74. *Дадали Е. Л.* Роль изучения экскреции катехоламинов в прогнозировании эффективности лечения тикозных гиперкинезов у детей // Педиатрия.— 1980.— № 10.—С. 48—50.
75. *Хохлов А. П., Хайлова И. М., Ненашева Т. И.* Показатели обмена фенилаланина при различных формах гиперкинезов у детей // Там же.— С. 46—48.
76. *Арушанян Э. В., Отеллин В. А.* Хвостатое ядро.— Л. : Наука, 1976.— 221 с.
77. *Комплексное* применение бензодиазепинов, солей лития и галоперидола при лечении невроза навязчивых движений и тиковых гиперкинезов различного происхождения / С. Б. Аксентьев, Н. П. Борисова, М. В. Левинский, Г. Н. Крыжановский // Журн. невропатологии и психиатрии.— 1987.— 87, № 4.— С. 543—549.
78. *Борисова Н. П., Крыжанская Т. Ф., Левинский М. В.* Опыт комплексного применения бендиазепинов, карбоната лития и галоперидола для лечения тикозных гиперкинезов // Неврозы у детей и подростков: Тез. докл. Всесоюз. конф.— М. : Б. И., 1986.— С. 26—28.
79. *Гиттик Л. С.* Клинико-физиологические взаимоотношения судорожных синдромов и гиперкинезов у детей // VII съезд невропатологов и психиатров УССР: Тез. докл.— Винница : Б. И., 1984.— Т. 2.— С. 163—164.
80. *GABA*-benzodiazepine interactions / Costa E., Corda M. G., Epstein B. et al. // The benzodiazepines: from molecular biology to clinical practica / Ed. by E. Costa.— New York : Raven press.— 1983.— P. 117—133.
81. *Поздеев В. К.* Медиаторные процессы и эпилепсия.— Л. : Наука, 1983.— 112 с.
82. *GABA* and other aminoacid in cortical and hippocampal Foci Removed neurosurgical from epileptic patients / A. Rougier, H. Loisean, F. Cohadon et al. // Advances in epileptology: 15th epilepsy int. symp. / Ed. by R. J. Porter.— New York : Raven press.— 1984.— P. 43—47.
83. *Корнеев А. Я., Лидеман Г. Р.* Бендиазепиновые рецепторы и постсинаптические ГАМК-рецепторы: свойства и взаимодействие // Успехи соврем. биологии.— 1984.— **100**, вып. 1 (4).— С. 51—67.
84. *Lacy J. P., Penry J. K.* Infantile spasms.— New York : Raven press, 1976.— 170 p.
85. *Vanasse M., Geoffroy G.* Treatment of epilepsy in children with nitrazepam // Advances in epilepology: The 10th Epilepsy Int. Symp. / Ed. by J. Wada, J. K. Perny.— Raven press: New York, 1980.— P. 503.
86. *Baruzzi A., Michelucci R., Tassinari C. A.* Nitrazepam // Antiepileptic drugs.— New York : Raven press, 1982.— P. 753—769.
87. *Schmidt D.* Behandlung der Epilepsien: Medikamentös-psychosozialoperativ.— Stuttgart; New York, 1984.— 266 p.
88. *Вольф М. Ш., Прокудин В. Н., Юркова И. А.* Место нитразепама в комплексном лечении больных эпилепсией // Журн. невропатологии и психиатрии.— 1973.— **73**, вып. 11.— С. 1714—1718.
89. *Карлов В. А.* Вопросы дифференцированного лечения больных эпилепсией // Там же.— 1980.— **80**, вып. 11.— С. 863—867.
90. *Schmidt D.* How to use benzodiazepines // Antiepileptic drug therapy in pediatrics.— New York : Raven press, 1983.— P. 271—280.
91. *Carson M. J., Gilden C.* Treatment of minor motor seizures with clonazepam // Develop. Med. Child. Neurol.— 1975.— **17**, N 6.— P. 306—310.
92. *Dreifuss F. E., Sato S.* Clonazepam // Antiepileptic drugs.— New York : Raven press, 1982.— P. 737—752.
93. *Болдырев А. И., Косой А. И.* Феназепам в лечении больных эпилепсией // Новые методы терапии псих. заболеваний: Тр. Моск. НИИ психиатрии МЗ РСФСР.— 1981.— **94**.— С. 117—120.
94. *Применение* феназепама при лечении очаговой эпилепсии / Е. П. Полякова, Б. К. Шапиро, Л. Б. Марьенко, Н. И. Долишня // Новые лекарственные препараты : Экспресс-информ.— 1984.— № 3.— С. 18—20.
95. *Москети К. В., Аксентьев С. Б., Макулькин Р. Ф.* Принципы лечения эпилепсии противосудорожными препаратами // Всесоюз. конф. по организации психиатр. и невролог. помощи детям (Симферополь, 22—24 сент. 1980 г.) — М. : Б. И., 1980.— С. 237—238.

96. *Browne T. R.* Benzodiazepines // Epilepsy: Diagnosis and management / Ed. by T. R. Browne, R. G. Feldman.— Boston; Toronto, 1983. — P. 235—246.
97. *Walker J. E., Homan R. W., Crawford I. J.* Lorazepam: a controlled trail in patients with interactable partial complex Seizures // Epilepsis.— 1984.— 25, N 4.— P. 464—466.
98. *Болдырев А. И.* Эпилепсия у взрослых.— М. : Медицина, 1984.— 288 с.
99. *Сараджишвили П. М., Геладзе Т. Ш.* Эпилепсия.— М. : Медицина, 1977.— 304 с.
100. *Коровин А. И.* Судорожные состояния у детей.— Л. : Медицина, 1984.— 224 с.
101. *Бруни Дж., Уилдер Б.* Лечение судорожных состояний // Лечение нервных заболеваний / Под ред. В. Видерхольта.— М. : Медицина, 1984. —С. 446—498.
102. *Эди М. Ж., Тайрер Дж. Х.* Противосудорожная терапия. — М. : Медицина, 1983.— 328 с.
103. *Wilder B. J., Schmidt P. P.* Current classification of epilepsies. Guide to seizure type and characteristics // Postgrad. Med. J.— 1985.— 77, N 4.— P. 188—199.
104. *Schmidt D.* Diazepam // Antiepileptic Drugs.— New York : Raven press.— 1982.— P. 711—735.
105. *O'Donohoe N. V., Paes B. A.* A trail of clonazepam in the treatment of severe epilepsy in infancy and childhood // Epilepsy : VIII Int. Symp. / Ed. by L. K. Penry.— New York : Raven press.— 1977.— P. 159—168.
106. *Bacia T., Purska-Rowinska E., Okuszko S.* Clonazepam in the treatment of drug-resistant epilepsy: a clinical shirt and long term follow-Up study // Epilepsy: A clin. and experim. res. monogr. neurol. sci.— Basel, 1980.— Vol. 5.— P. 153—159.
107. *Опыт* лечения клоназепамом (антелепсином) терапевтически резистентных приступов эпилепсии в детском возрасте / Д. Хобуш, Р. Арнаут, Е. Роман и др. // Журн. невропатологии и психиатрии.— 1982.— 82, вып. 10.— С. 1563—1566.
108. *Allen J. W., Jawad S., Oxley J.* Development of tolerance to anticonvulsant effect of clobazam // J. Neurol., Neurosurg., Psychiatr.— 1985.— 48, N 3. — P. 284—285.
109. *Phyllis K. S.* Reduced benzodiazepines receptor binding in cerebral cortical cultures chrinically exposed to diazepam // Epilepsia.— 1983.— 24, N 3.— P. 313—320.
110. *Ковалев Г. И., Харламов А. Н.* Нейрохимические механизмы транквилизирующего эффекта структурных аналогов производных ГАМК // Нейрохимические основы психотропного эффекта: Тр. НИИ фармакологии АМН СССР.— М. : Б. И., 1982.— С. 127—137.
111. *Hildebrand W. K.* Concomitant use of clonazepam and valproic acid in tritment of epileptic seizures // Amer. J. Hosp. Pharm.— 1979.— 36, N 1.— P. 22—27.
112. *Leavors P. M., Clark J. E., Maheshwari M. C.* Treatment of generalized epilepsies of childhood and adolescence with sodium valproate (epilim) // Develop. Med. Child. Neurol.— 1977.— 19, N 1.— P. 9—25.
113. *Раевский К. С., Георгиев В. П.* Медиаторные аминокислоты.— М.; София : Медицина.— 1986.— 240 с.
114. *Сытинский И. А.* Система гамма-аминомасляной кислоты и циклические нуклеиды головного мозга при действии наркотической и алкогольной интоксикации // Фармакология и токсикология.— 1982.— № 1.— С. 104—109.
115. *Биологические* аспекты наркоманий / А. И. Майский, Н. Н. Ведерникова, В. В. Чистяков, В. В. Пакин.— М. : Медицина, 1982.— 256 с.
116. *Snyder S. U.* Opiata receptor in normal and drug altered brain funotion // Nature.— 1975.— 275, N 2.— P. 185—189.
117. *Сергеев П. В., Шимановский Н. Л.* Фармакология бендиазепиновых рецепторов // Фармакология и токсикология.— 1986.— № 4.— С. 108—114.
118. *Буров Ю. В., Ведерникова Н. Н.* Нейрохимия и фармакология алкоголизма.— М. : Медицина, 1985.— 223 с.

119. *Kulonen E.* Ethanol and GABA // Med. Biol.— 1983.— 61, N 4.— P. 147—167.
120. *Laborit H.* Sodium 4-hydroxybutirate // J. Neuropharmacol.— 1964.— 39, N 10.— P. 433—452.
121. *Ленинджер А.* Основы биохимии.— М. : Мир, 1985.— Т. 2.— 500 с.
122. *A novel* cognitive function test for detection of alcoholic brain damage / R. Draper, A. Manning, M. Daly, J. Larraghy // Neuropharmacology.— 1983.— 22, N 3.— P. 567—570.
123. *Березин Ф. Б., Мирошников М. П., Рожанец Р. В.* Методика многостороннего исследования личности.— М. : Медицина, 1976.— 176 с.
124. *Иванов Н. Я., Личко А. Е.* Усовершенствование процедуры обработки результатов, полученных с помощью патохарактерологического диагностического опросника для подростков // Патохарактерологические исследования у подростков.— Л. : Б. И., 1981.— С. 15—28.
125. *Кузнецов В. Г.* О сопоставлении результатов обследования делинквентных подростков методами ПДО и УНП // Там же.— С. 54—55.
126. *Мельников В. М., Ямпольский Л. Т.* Введение в экспериментальную психологию личности.— М. : Просвещение, 1985.— 320 с.
127. *Биоактивность* — функция структуры. 20. Анализ признакового пространства для классификации 1,5-дизамещенных тетразолов / В. И. Фетисов, В. Н. Устинов, В. В. Ежов, Г. А. Сокольский // Хим.-фармацевт. журн., 1982.— № 10.— С. 74—79.
128. *Jensen I. H., Petersen E. H.* Bidirectional effects of benzodiazepine receptor ligands against picrotoxin- and Pentylenetetrazol-Induced seizures //J. Neural Transm.— 1983.— 58, N 3.— P. 183—191.
129. *Olsen R. W.* Drud interactions at the GABA-receptorionophore complex // Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.— 1982.— 22, N 4.— P. 245—277.
130. *Purinergic* inhibition of diazepam binding to rat brain (in vitro) / P. G. Marangos, S. M. Paul, A. M. Parma et al. // Life Sci.— 1979.— 24, N 10.— P. 851—858.
131. *Rehavi M., Skolnick P., Paul S. M.* Effects of tetrazol derivates on [^{3}H]-diazepam binding in vitro. Correlation with convulsant potency // Eur. J. Pharmacol.— 1982.— 78, N 3.— P. 353—356.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За истекшие с момента открытия бензодиазепиновых рецепторов 10 лет в мировой литературе накоплена ценная информация о сложных процессах, протекающих в ЦНС и обусловливающих эмоциональные реакции (тревогу, беспокойство, страх, паническое состояние, агрессивное поведение), состояние опьянения, вызывающих сон, седативный, анксиолитический эффекты, судорожные состояния, купирующих судороги и пр. БДР — часть сложного рецепторно-ионофорного ансамбля, играющего исключительно важную роль в процессах регуляции ЦНС, в формировании вышеперечисленных эффектов и состояний. Имеются данные о связи ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля с другими рецепторными комплексами, рецепторами и ионными каналами. В целом проблема БДР оказалась значительно более сложной и многогранной, чем представлялось вначале.

Обобщение и анализ имеющейся в литературе информации о механизмах действия анксиолитических, противосудорожных и снотворных средств, действие которых опосредуется через ГАМК-БД-рецепторно-ионофорный ансамбль, врядли возможны в рамках одной монографии. В данной книге проблема рассмотрена с позиций структурно-функционального изучения БДР и их лигандов, а также эффекторного анализа функционирования ГАМК-БД-рецепторно-ионофорного ансамбля. Результатом этих исследований явилось создание ряда новых психотропных средств и разработка теоретически обоснованных методов лечения психоневротических расстройств.

Следует особо подчеркнуть роль данных о связывании с рецепторами различных веществ для молекулярного дизайна новых лекарственных веществ. В этом случае, как правило, элиминируется влияние метаболизма и фармакокинетики соединений на их конечные фармакологические характеристики.

Результаты изучения ЦБДР могут быть использованы для целенаправленного изыскания новых психотропных средств в трех направлениях: синтез новых агонистов и антагонистов БДР на основе дифференциации лигандов БДР; синтез аналогов гипотетических эндогенных лигандов БДР; синтез новых соединений на основе количественного изучения связи структура — аффиннитет к БДР — активность.

Среди агонистов БДР найдены весьма активные анксиолитики небензодиазепиновой структуры — триазолопиридазины и уникальные снотворные препараты зопиклон и сuриклон.

Синтез аналогов гипотетических эндогенных лигандов БДР привел к получению ряда интересных психофармакологически активных соединений, в том числе — аналогов икозина и никотинамида, превосходящих последние по активности, а также новых производных β-карболина. Среди производных гармана найдены перспективные анксиолитики, антидепрессанты и нейролептики. Открытие, наряду с ЦБДР, мест связывания БД и результаты их изучения открывают перспективы принципиально новых подходов к диагностике и лечению психоневротических расстройств и соматических заболеваний.

Изложенное позволяет еще раз подчеркнуть, что современные представления о механизмах действия взаимодействующих лекарственных препаратов с ГАМК-БД-рецепторно-ионофорным ансамблем являются исключительно интересным и важным вкладом в физико-химическую биологию ЦНС.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

ОГЛАВЛЕНИЕ

Монография

Сергей Андреевич Андронати,
Александр Степанович Яворский,
Владимир Митрофанович Чепелев и др.

МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ АНКСИОЛИТИЧЕСКИХ, ПРОТИВОСУДОРОЖНЫХ И СНОТВОРНЫХ СРЕДСТВ

Утверждено к печати ученым советом
Физико-химического института
им. А. В. Богатского АН УССР


Редактор *А. И. Кузьменко*
Оформление художника *С. А. Лукъяненко*
Художественный редактор *Г. А. Сергеев*
Технический редактор *Б. М. Кричевская*
Корректоры *Л. Н. Яцута, Е. А. Михалей,*
Е. А. Дубарь


ИБ № 9513


Сдано в набор 19.10.87. Подп. в печ. 16.02.88. БФ 01031. Формат 60×90/16. Бум. тип. № 1. Обыкн. нов. гарн. Выс. печ. Усл. печ. л. 16,0. Усл. кр.-отт. 16,0. Уч.-изд. л. 18,61. Тираж 1360 экз. Зак. 7—2934. Цена 4 р.

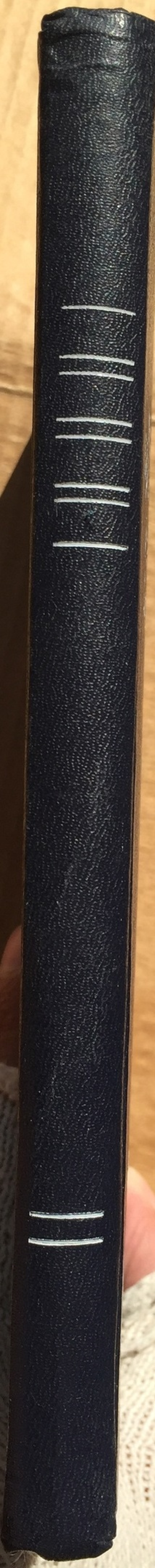
Издательство «Наукова думка», 252601 Киев 4, ул. Репина, 3.

Отпечатано с матриц Головного предприятия РПО «Полиграфкнига», 252057, Киев 57, ул. Довженко, 3 в Киевской книжной типографии научной книги, 252004, Киев 4, ул. Репина, 4. Зак. 8-212.









О дивный новый

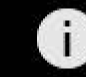


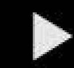

BKFC
12:31
WATCHING ROAD TO RAWLINGS vs HART 2
UP NEXT: STEVE TOWNSEL vs IDREES WASI
BOXING
THUG LIFE
EST 187


BKFC
13:09
WATCHING ROAD TO RAWLINGS vs HART 2
UP NEXT: STEVE TOWNSEL vs IDREES WASI
THUG LIFE

Как закончились Звездные войны эпизод 8 и 9 и начался Мандалорец











7:32 / 21:44



ТОП МЕСЯЦА

Spotted Dick - 6 666 RUB

taffiti - 1222 RUB

ТОП ДНЯ

715

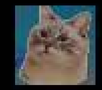
127

56

92

ПОДДЕРЖКА КАНАЛА АПРЕЛЬ

53%



livepix.gg/caiquegamer07

mande seu pix com mensagem na live!

RT THROW

Ashley




HALF & HALF
TWISTED TEA
HALF & HALF


HALF & HALF
TWISTED TEA
Made with Real Brewed Tea
HARD ICED TEA
HALF & HALF
CONTAINS ALCOHOL


SK
SИБИРСКАЯ
КОЛЛЕКЦИЯ



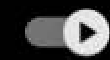
ЗДОРОВЬЕ БЕЗ ТРУДА
ЖИВИ ЛЕГКО!
СКИДКИ!
528
319
СКИДКИ!
390
247 40
РЫБА
SИБИРСКАЯ КОЛЛЕКЦИЯ
БОМБИЧЕСКИЕ
пельмени

Homeless women on the streets of Phoenix Arizona

TOO UGLY
NEEDING WORK
TO PROSTITUTE
TOO HONEST
TO STEAL
GOD BLESS YALL
HAVE A GOOD DAY/NIGHT!!



0:03 / 19:14








Проект
Правительства
Москвы
Московский исторический фестиваль
Времена
и эпохи
Победы России
9-13 июня
VK Клипы
EVA.RU
ИЗВЕСТИЯ iz
ДОРОЖНОЕ
96.0
0+
moscowseasons.com
#московскиесезоны
#временаиэпохи
[redacted]
[redacted]